

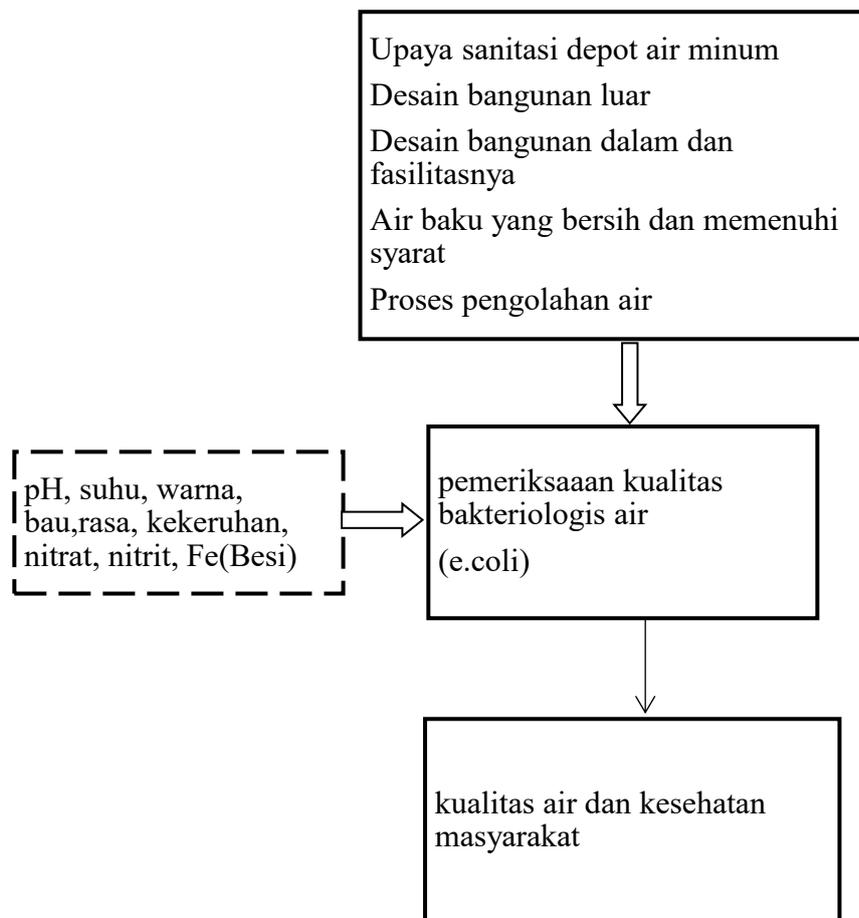
BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan bakteri *Escherichia coli* pada sampel Depot Air Minum yang ada di Kelurahan Oesapa

B. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka konsep

keterangan :

□: variabel yang diteliti

□: variabel yang tidak diteliti

C. Variabel Penelitian

1. Sanitasi Depot Air Minum
2. Kandungan *E.Coli* pada air minum

D. Defenisi Operasional

Tabel 2
Defenisi operasional

No	Variabel	Defenisi Operasional	Kriteria Penilaian	Skala	Alat Ukur
1	Sanitasi Depot Air Minum	Pemeriksaan kondisi sanitasi Depot Air Minum yang terdapat di Kelurahan Oesapa Wilayah Kerja Puskesmas Oesapa yang terdiri dari lokasi, desain bangunan luar, desain bangunan dalam dan fasilitasnya, air baku.	MS : jika nilai ≥ 80 TMS : jika nilai < 80	Nominal	Formulir
2	Kandungan <i>E.Coli</i> Pada Depot Air Rminum	Jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i> yang terdapat pada air hasil pengolahan depot air minum yang ada di Kelurahan Oesapa Selatan	MS : jika bakteri e.coli = 0/100 ml air TMS : jika bakteri e.coli > 0/ml air	Nominal	CFU

E. Populasi Dan Sampel

1. Populasi penelitian ini adalah semua depot air minum yang ada di Kelurahan Oesapa Selatan yang berjumlah 5 depot air minum.
2. Sampel pada penelitian ini adalah total populasi yang berjumlah 5 sampel dari depot air minum.

F. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Data primer adalah data yang didapat secara langsung dari hasil pemeriksaan e.coli pada Depot Air Minum yang dilakukan di Kelurahan Oesapa Selatan Wilayah Kerja Puskesmas Oesapa

G. Metode Pengumpulan Data

a. Tahap Persiapan

- a. Mempersiapkan surat ijin
- b. Persiapan instrumen penelitian
- c. Persiapan laboratorium

b. Tahap Pelaksanaan

- a. Pemeriksaan depot air minum pada inspeksi kesehatan lingkungan dilakukan dengan cara melihat pada lembar formulir dan apabila kondisi lapangan tidak sesuai dengan formulir inspeksi kesehatan lingkungan maka akan diberikan nilai dengan cara di lingkarpada nilai yang ada pada formulir.
- b. Pemeriksaan sampel *Escherichia coli* dilakukan pengambilan sampel dilapangan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Alat dan bahan
 - a) Botol sampel steril
 - b) Alkohol 70 %
 - c) Kertas label dan alat tulis.
 - d) Wadah penyimpanan sampel.
- 2) Cara pengambilan sampel
 - a) Sterilkan bibir galon / dispenser dengan alkohol 70 %.
 - b) Buka dispenser, alirkan 2-3 menit, kemudian tutup kembali.
 - c) Buka tutup botol steril
 - d) Isi botol dengan air sampai penuh.
 - e) Buang kembali air didalam botol sisakan $\frac{3}{4}$ botol.
 - f) Tutup kembali botol usahakan botol tetap dalam keadaan steril
 - g) Berikan label pada sampel tersebut.
 - h) Masukkan sampel kedalam coolbox dan dikirim ke laboratorium Kemenkes Poltekkes Kupang Prodi Sanitasi untuk pemeriksaan.
 - a. Pemeriksaan e.coli pada air minum di Laboratorium Mikrobiologi Prodi Sanitasi
- 1) Pemeriksaan e.coli di laboratorium adapun alat dan bahan yang harus disiapkan untuk tahap uji duga (*presumptive test*)
 - a) Tabung reaksi steril
 - b) Tabung durham steril

- c) Rak tabung reaksi
 - d) Pipet ukuran 10 ml dan 1 ml steril
 - e) Bunsen
 - f) Bulp/pipet filler/penghisap
 - g) Inkubator
 - h) Sampel air
 - i) Media LB 1 dan LB 3 steril
 - j) Alkohol
 - k) Kapas
 - l) Kertas label
 - m) Korek api
- 2) Cara kerja
- a) Siapkan alat dan bahan
 - b) Bersihkan (aseptiskan)meja kerja dan tangan pratikum menggunakan alkohol
 - c) Nyalakan bunsen
 - d) Inokulasikan (masukan) masing – masing 10 ml sampel air kedalam 5 tabung yang berisi media LB 3 steril dengan menggunakan pipet ukur steril
 - e) Inokulasikan (masukan) masing – masing 1 ml sampel air kedalam 5 tabung yang berisi media LB 1 steril dengan menggunakan pipet ukur steril

- f) Inokulasikan (masukan) masing – masing 0,1 ml sampel air kedalam 5 tabung yang berisi media LB 1 steril dengan menggunakan pipet ukur steril
 - g) Beri label pada masing – masing tabung sesuai dengan ml sampel yang dimasukan yaitu: 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml.
 - (1). Inkubasikan piaraan di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2 x 24 jam.
 - (2). Amati piaraan itu setiap 24 jam. Amati juga gas yang terbentuk dalam tabung durham. Timbulnya gas dalam 24 jam menunjukkan uji positif, dan apabila terbentuknya gas setelah waktu 24 jam menunjukkan hasil yang meragukan. Apabila setelah 2 x 24 jam tidak terbentuk gas, maka uji dikatakan hasilnya negatif. Untuk hasil positif dan hasilnya meragukan maka perlu dilanjutkan ke uji penetapan/penegasan (*Confirmed Test*)
- 3) Uji Penegasan (*Confirmed Test*)
- a) Alat
 - (1). Tabung reaksi steril
 - (2). Tabung durham steril
 - (3). Rak tabung reaksi
 - (4). Jarum ose
 - (5). Bunsen
 - (6). Inkubator

b) Bahan

- (1). Hasil uji duga positif/meragukan
- (2). Media BGLB steril
- (3). Alkohol
- (4). Kapas
- (5). Kertas label
- (6). Korek api

c) Cara kerja

- (1). Siapkan alat dan bahan
- (2). Bersihkan (aseptiskan) meja kerja dan tangan praktikan menggunakan alkohol
- (3). Nyalakan bunsen
- (4). Bakar jarum ose sampai merah membara. Dinginkan sebentar
- (5). Inokulasikan (masukan) 2-3 mata ose spesimen dari hasil uji duga positif/meragukan kedalam 10 ml media BGLB steril
- (6). Beri label pada tabung sesuai dengan label hasil uji duga positif/meragukan.
- (7). Inkubasikan piaraan dalam inkubator
- (8). Untuk pemeriksaan e.coli : suhu 44-45 C selama 1x24 jam
- (9). Amati gelembung gas yang terjadi

(10). Apabila terjadi gelembung gas dalam tabung durham maka hasilnya positif

(11). Tulis hasil yang positif dan cocokan dengan tabel kombinasi MPN untuk mendapatkan angka kuman (jumlah *coli/ e.coli*)

(12). Untuk pemeriksaan e.coli dengan hasil positif maka bisa dilanjutkan dengan uji lengkap (*Complete Test*)

4) Uji lengkap (Complete test)

a) Alat

(1). Cawan petri

(2). Jarum ose

(3). Bunsen

(4). Inkubator

b) Bahan

(1). Uji penegasan dengan hasil positif

(2). Media EMBA steril

(3). Media LB 1 steril

(4). Alkohol

(5). Kapas

(6). Kertas label

(7). Korek api

c) Cara kerja

(1). Siapkan alat dan bahan

- (2). Bersihkan (aseptiskan) meja kerja dan tangan praktikan menggunakan alkohol
- (3). Nyalakan bunsen
- (4). Buat piaraan jasad renik e.coli dari uji penegasan positif pada media agar cawan EMBA dengan cara : piaraan tuang (*pour plate*) piaraan sebaran (*spread plate*), piaraan goresan (*streak plate*), atau penanaman langsung (*direct plate*)
- (5). Inkubasikan piaraan itu dalam inkubator dengan suhu 37C selama 2x24 jam
- (6). Amati pertumbuhan koloni pada permukaan agar itu adakah koloni tipikal. Apabila tampak kolono tipikal maka uji dinyatakan hasilnya positif.
- (7). Buat piaraan cair dalam media LB 1 dari koloni *typikal* tersebut dengan cara : mengambil dengan jarum ose steril 2 koloni tipikal pada agar EMBA dan segera dimasukkan kedalam media LB 1 yang sudah disediakan
- (8). Inkubasikan piaraan itu dalam inkubator dengan suhu 37C selama 2x24 jam.
- (9). Amati gas dalam tabung durham setiap 24 jam. Apabila terbentuk gas maka hasilnya positif.

H. Pengolahan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan data primer yang diperoleh dari hasil inspeksi. Tahap penelitian: mengisi formulir yang terdiri dari skor 1,2 dan 3 jika tidak sesuai dilingkari pada kolom yang terdapat pada formulir. Untuk tahap pengolahan data total yang tidak sesuai dihitung dan dimasukkan kedalam rumus untuk mengetahui apakah depot tersebut memenuhi syarat atau tidak memenuhi syarat. Adapun rumus yang digunakan:

$$100 - ((\text{total nilai ketidaksesuaian}/165) * 100).$$

I. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan adalah analisis deskriptif. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan standar Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 2 Tahun 2023 Tentang Kesehatan Lingkungan