

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif untuk memperoleh gambaran MPN *Colitinja* pada air sumur gali yang ada di Dusun III A Desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Dusun III A Desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan, dan pemeriksaan air sumur gali dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus-September 2022.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini 250 sumur gali di Dusun IIIA Desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan.

2. Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah air sumur gali di Dusun IIIA Desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan, dengan jumlah 30 air sumur gali yang sesuai kriteria inklusi yaitu sumur gali dengan septictank berjarak < 11 meter.

D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel

Variabel penelitian adalah MPN bakteri *Colitinja* pada air sumur gali di desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan.

2. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Tabel Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	MPN bakteri Colitinja	MPN bakteri Colitinja yang terdapat pada air sumur gali di Dusun IIIA Desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan	Metode MPN (Most Probable Number) ragam 333	Tabel MPN Thomas Permenkes No. 32 Tahun 2017	Berdasarkan Permenkes No. 32 Tahun 2017: 1. Memenuhi syarat ≤ 50 ml/100 ml. 2. Tidak memenuhi syarat > 50 ml/100 ml.	Ordinal
2.	Sumur gali	Jarak antara sumur gali dengan sumber pencemar, yaitu septic tank.	Mengukur langsung	Meteran	Berdasarkan SNI 03-2916-1992: 1. Memenuhi syarat ≥ 11 meter. 2. Tidak memenuhi syarat < 11 meter.	Ordinal

E. Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dari pengambilan sampel air sumur gali di desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan hingga didapatkan hasil pengamatan berupa nilai MPN Colitinja pada air sumur gali.

Prosedur pengukuran jarak sumur gali dengan septictank:

- a) Disiapkan alat yang akan digunakan seperti tali plastik, meteran, dan alat tulis.
- b) Ukur jarak menggunakan tali plastik yang dipanjangkan dari sumur gali hingga septictank.
- c) Konfirmasi panjang tali atau jarak tersebut menggunakan meteran.
- d) Tulis pada kertas jarak yang sudah didapatkan, dan dinyatakan dalam satuan meter.

1. Alat: botol sampel, meteran, tabung reaksi, rak tabung, erlenmeyer, tabung durham/tutup ampul, neraca analitik, beaker glass, gelas ukur, batang pengaduk, lampu bunsen, kapas/aluminium foil, kertas label, oven, autoclave dan incubator
2. Bahan: air sumur gali sebagai sampel yang akan diperiksa, aquadest, media lactose broth (LB), media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB).
3. Prosedur kerja
 - a. Sterilisasi
 - 1) Tutup autoclave dibuka dan diletakkan.
 - 2) Panci autoclave dikeluarkan, lalu tuangkan air kedalam autoclave sampai tanda batas.
 - 3) Panci autoclave dimasukkan kembali.
 - 4) Media atau alat yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam panci autoclave.
 - 5) Autoclave ditutup dan semua sekrup dikencangkan dengan memutar searah jarum jam.
 - 6) Kabel power disambungkan ke sumber arus listrik.
 - 7) Autoclave dinyalakan dengan menempatkan tombol power pada posisi ON.
 - 8) Katup yang berada diatas tutup autoclave dibiarkan terbuka, tunggulah sampai ada tetesan air yang keluar melalui katup tersebut, lalu tutup kembali katupnya.
 - 9) Suhu dan tekanan dalam autoclave dibiarkan sampai mencapai suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm.
 - 10) Suhu dan tekanan yang sudah tercapai dipertahankan selama 15 menit.
 - 11) Setelah 15 menit, autoclave secara otomatis akan mati.
 - 12) Tunggu tekanan dan suhu didalam autoclave sampai 0 untuk membuka tutup autoclave dan mengeluarkan media atau alat yang sudah disterilisasi, dengan membuka katup uap yang berada diatas tutup autoclave sehingga uap yang masih berada didalam keluar.

- 13) Tutup autoclave dibuka dengan memutar semua sekrup berlawanan arah dengan jarum jam (Protap Laboratorium Bakteriologi, 2019).
- b. Pembuatan media
- 1) Pembuatan Media LBSS (Lactose Broth Single Strength)
 - a) Media Lactose Broth ditimbang sebanyak yang dibutuhkan.
 - b) Media Lactose Broth yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan tambahkan aquadest sebanyak 1 liter, lalu dilarutkan.
 - c) Kemudian, masukkan media Lactose Broth yang sudah dilarutkan kedalam tabung reaksi berisi tabung durham dalam posisi terbalik sebanyak 10 ml, dan ditutup dengan kapas.
 - d) Sterilisasi media Lactose Broth menggunakan autoclave dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Soemarno, 2000).
 - 2) Pembuatan Media LBTS (Lactose Broth Triple Strength)
 - a) Untuk pembuatan media Lactose Broth Triple Strength, media Lactose Broth ditimbang sebanyak 3 x banyak nya media Lactose Broth Single Strength.
 - b) Media Lactose Broth yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan tambahkan aquadest sebanyak 1 liter, lalu dilarutkan.
 - c) Kemudian, masukkan media Lactose Broth yang sudah dilarutkan kedalam tabung reaksi berisi tabung durham dalam posisi terbalik sebanyak 5 ml, dan ditutup dengan kapas.
 - d) Sterilisasi media Lactose Broth menggunakan autoclave dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Soemarno, 2000).
 - 3) Pembuatan Media BGLBB (Brilliant Green Lactose Bile Broth)
 - a) Media BGLBB ditimbang sebanyak yang dibutuhkan.
 - b) Media BGLBB yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan tambahkan aquadest sebanyak 1 liter, lalu dilarutkan.

- c) Kemudian, masukkan media BGLBB yang sudah dilarutkan kedalam tabung reaksi berisi tabung durham dalam posisi terbalik sebanyak 5 ml, dan ditutup dengan kapas.
 - d) Sterilisasi media BGLBB menggunakan autoclave dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Soemarno, 2000).
- c. Pengambilan sampel
- 1) Siapkan botol steril yang tutupnya terbungkus kertas aluminium.
 - 2) Ikat botol dengan tali dan pasang pemberat di bagian dasar botol.
 - 3) Buka pembungkus kertas di bagian mulut botol dan turunkan botol perlahan-lahan ke dalam permukaan air.
 - 4) Tarik tali sambil digulung.
 - 5) Buang sebagian isi botol hingga volumenya $\pm \frac{3}{4}$ volume botol.
 - 6) Bakar bagian mulut botol, kemudian botol ditutup kembali (SNI 06-2412-1991).
- d. Pemeriksaan sampel air

Pemeriksaan sampel air akan dilakukan menggunakan metode Most Probable Number dengan ragam 333 dengan tahapan sebagai berikut:

- 1) Uji penduga
 - a) Persiapkan alat dan bahan yang digunakan, yaitu pipet ukur 10 ml, pipet ukur 1 ml, rak tabung, sampel air, media Lactose Broth Triple Strength sebanyak 3 tabung dan media Lactose Broth Single Strength sebanyak 6 tabung.
 - b) Sampel air dipipet sebanyak 10 ml menggunakan pipet steril ke dalam 3 tabung yang berisi media Lactose Broth Triple Strength.
 - c) Sampel air dipipet sebanyak 1 ml menggunakan pipet steril ke dalam 3 tabung yang berisi media Lactose Broth Single Strength.
 - d) Sampel air dipipet sebanyak 0,1 ml menggunakan pipet steril ke dalam 3 tabung yang berisi media Lactose Broth Single Strength.
 - e) Kemudian homogenkan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Apabila dalam 24 jam belum ada pertumbuhan maka diteruskan selama 48 jam.

- f) Hasil :
- (a) Positif (+) : Jika terjadi kekeruhan pada media dan terbentuk gas pada tabung durham
 - (b) Negatif (-) :
 - (1) Jika media menjadi keruh dan tanpa gas, atau
 - (2) Jika media tetap jernih dan tanpa gas (Soemarno, 2000).
- 2) Uji penegasan untuk menentukan MPN Colitinja
- a) Hasil yang positif pada uji penduga dilanjutkan ke uji penegasan menggunakan media BGLBB.
 - b) Sampel yang positif pada media Lactose Broth diambil sebanyak 1 ose, lalu ditanam ke media BGLBB.
 - c) Selanjutnya, diinkubasikan pada suhu 44°C selama 24 jam.
 - d) Setelah diinkubasi baca dan catat hasil :
 - (a) Positif (+) : Jika terjadi kekeruhan pada media dan terbentuk gas pada tabung durham
 - (b) Negatif (-) :
 - (1) Jika media menjadi keruh dan tanpa gas, atau
 - (2) Jika media tetap jernih dan tanpa gas.
 - e) Hasil positif dikonfirmasi dengan tabel MPN 333 menurut formula Thomas untuk memperoleh index MPN coliform/100 ml sampel (Soemarno, 2000).

F. Pengolahan dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh secara langsung yaitu berupa nilai MPN Colitinja pada air sumur gali, yang selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan di narasikan.

2. Analisa Data

Analisis data yang digunakan adalah univariat, untuk menentukan persentase kualitas air sumur gali di desa Fajar Baru Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan yang memenuhi syarat dan tidak

memenuhi syarat Permenkes No. 32 Tahun 2017, adapun rumus perhitungan persentase yang akan digunakan sebagai berikut:

Persentase hasil air sumur gali memenuhi syarat =

$$\frac{\text{Jumlah air sumur gali memenuhi syarat} \times 100\%}{\text{Jumlah sampel yang diperiksa}}$$

Persentase hasil air sumur gali tidak memenuhi syarat =

$$\frac{\text{Jumlah air sumur gali tidak memenuhi syarat} \times 100\%}{\text{Jumlah sampel yang diperiksa}}$$