

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini termasuk jenis penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh depot air minum di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat Inap Simpur dan Puskesmas Palapa yaitu sebanyak 22 depot air minum. Sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *total population sampling* yaitu jumlah sampel sama dengan populasi. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sanitasi tempat, sanitasi peralatan, dan sanitasi penjamah dengan kategori kurang baik jika skor  $<70\%$  total skor dan kategori baik jika skor  $\geq 70\%$  total skor. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah keberadaan bakteri *Escherichia coli*. Pengambilan data menggunakan kuesioner dan pemeriksaan laboratorium dengan metode *Most Probable Number* (MPN). Dalam penelitian ini dilakukan analisis bivariat dengan menggunakan *Uji Fisher exact test* untuk menguji hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juli tahun 2022 pada Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat Inap Simpur dan Puskesmas Palapa Tahun 2022.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **1. Lokasi Penelitian**

Lokasi penelitian ini dilakukan di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat

Inap Simpur dan Puskesmas Palapa. Alasan pemilihan lokasi yang dilakukan karena:

1. Banyaknya Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat Inap Simpur dan Puskesmas Palapa tahun 2022 sebanyak 22 depot.
2. Pemeriksaan kualitas air secara rutin sesuai dengan persyaratan kualitas air minum pada Permenkes No. 492 Tahun 2010 belum dilakukan oleh pengelola DAMIU di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat Inap Simpur dan Puskesmas Palapa tahun 2022.

## **2. Waktu Penelitian**

Waktu penelitian yang dilakukan pada bulan Maret-Juli 2022.

## **C. Subjek Penelitian**

### **1. Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah DAMIU dengan jumlah sebanyak 22 DAMIU di Wilayah Kerja Puskesmas Rawat Inap Simpur dan Puskesmas Palapa Tahun 2022.

### **2. Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *total population sampling* yaitu jumlah sampel sama dengan populasi.

## **D. Variabel Penelitian**

### **1. Variabel Bebas (*independent*)**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah:

- a. Sanitasi Tempat
- b. Sanitasi Peralatan

- c. Sanitasi Penjamah

## **2. Variabel Terikat (dependent variabel)**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah keberadaan bakteri *Escherichia Coli*.

## **E. Metode Pengumpulan Data**

Metode pengumpulan data dalam penelitian ini adalah :

### **1. Data Primer**

Data primer dalam penelitian ini diperoleh melalui :

- a. Data depot air minum, jumlah serta lokasi depot air minum.
- b. Kuesioner mengenai tindakan Responden terhadap sanitasi peralatan, sanitasi tempat, dan sanitasi penjamah DAMIU.

### **2. Data Sekunder**

Data sekunder diperoleh melalui kepustakaan berupa jurnal-jurnal pendukung, serta informasi yang relevan mengenai penelitian.

## **F. Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan diantaranya :

### **1. Pengambilan Sampel**

Cara pengambilan sampel air minum

- 1) Pakai handscoon, ambil air sampel yang telah di proses
- 2) Sebelum pengambilan sampel pastikan dulu botol/wadah dalam keadaan steril. Botol harus disterilakan dulu ke dalam inkubator.

- 3) Sterilkan kran dengan lidah api lebih kurang 1 menit, buka kapas penutup botol, lidah apikan penutup botol, isi botol jangan sampai penuh, lidah apikan lagi mulut botol lalu tutup botol dengan kapas.
- 4) Tulis etiket di label berisi nomor, jenis sampel, jam dan tanggal pengambilan sampel.
- 5) Lap/keringkan bagian luar botol sampel dengan tisu, kemudian tempelkan label dan tutup dengan lakban agar label tidak rusak/basah.
- 6) Masukkan sampel kedalam coolbox, jaga suhu antara 2-8°C sampai diterima di laboratorium.
- 7) Membawa sampel ke laboratorium Alam Lestari dengan tujuan untuk pemeriksakan jumlah *Escherichia coli*.

## 2. Alat dan Bahan

- a. Alat yang digunakan
  - 1) Gelas ukur
  - 2) Tabung reaksi
  - 3) Tabung durham
  - 4) Batang ose
  - 5) Coolbox
  - 6) Coolpack
  - 7) Autoclave
  - 8) Inkubator
  - 9) Labu erlenmeyer

- 10) Pipet ukur
  - 11) Alat tulis
  - 12) Lampu Bunsen
  - 13) Rak tabung
  - 14) Botol sampel
  - 15) Label
- b. Bahan yang digunakan
- 1) Air minum depot isi ulang
  - 2) Aquades
  - 3) Media *Lactosa Broth* (LB)
  - 4) Media *Brilliant Green Lactosa Broth* (BGLB)

### 3. Cara Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) dilakukan dengan menggunakan metode tabung ganda yang terdiri dari :

(3 x 10 ml) : (3 x 1 ml) : (3 x 0,1 ml).

Pemeriksaan tabung ganda terdiri dari :

a. Test Pendahuluan (*Presumptive Test*)

Media yang digunakan adalah Laktosa Broth (LB) Cara pemeriksaan :

- 1) Siapkan tabung reaksi berisi 10 ml Lactosa Broth (LB), kemudian disusun di rak tabung dan diberi tanda nomor urut, jumlah atau volume bahan yang akan diperiksa dan tanggal pemeriksaan.
- 2) Dengan menggunakan pipet steril, masukkan 10 ml bahan

pemeriksaan yang telah disiapkan ke dalam tabung.

- 3) Masing–masing tabung yang telah terisi sampel dihomogenisasi sampai bahan yang diperiksa dan larutan yang digunakan untuk memeriksakan tercampur rata.
  - 4) Setelah tercampur rata, masukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.
  - 5) Setelah 24 jam, semua tabung dikeluarkan, catat tabung yang menunjukkan reaksi adanya pembentukan gelembung udara pada tabung durham.
  - 6) Pembentukan gas pada tabung durham pada test pendahuluan dinyatakan hasil test (+)/positif.
  - 7) Hasil positif ini dilanjutkan pada test penegasan. Catat semua tabung yang menunjukkan peragian lactosa (pembentukan gas).
    - a) Bila terbentuk gas pada tabung dinyatakan positif (+), dan dilanjutkan dengan test penegasan.
    - b) Apabila test dalam waktu 24 jam tidak membentuk gas, dimasukkan ke dalam inkubator kembali pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam, bila terbentuk gas pada tabung durham, maka hasilnya positif (+) dan test dilanjutkan pada test penegasan.
    - c) Bila test negatif (-), berarti negatif (-) dan tidak perlu dilakukan test penegasan.
- b. Test Penegasan (*Convirmative Test*)

Untuk test lanjutan atau test penegasan media yang digunakan adalah Brilliant Green Laktose Bile Broth (BGLB) 2 %.

- 1) Dari setiap tabung yang positif (+) dipindahkan (diinokulasikan) sebanyak 1-2 ose ke dalam tabung konfirmasi masing–masing berisi 10 ml BGLB 2%.
- 2) Tabung tersebut kemudian diinkubasikan pada suhu 44<sup>0</sup>C selama 24 jam guna memastikan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tinja.
- 3) Pembacaan dilakukan setelah 24 jam dengan melihat jumlah tabung yang menunjukkan positif gas. Dari tabung yang diinkubasikan pada suhu 44<sup>0</sup>C.
- 4) Jumlah tabung yang positif kemudian dicocokkan dengan tabel MPN, maka akan diperoleh MPN kuman *Escherichia coli* pada tabung yang diinkubasikan pada suhu 44<sup>0</sup>C.

### G. Definisi Operasional

No	Nama Istilah	Definisi Istilah	Alat Ukur	Cara Ukur	Skala
1	Keberadaan bakteriologis air minum hasil olahan depot air minum	Keberadaan <i>Escherichia coli</i> di dalam air minum hasil pengolahan depot air minum. Kadar <i>Escherichia coli</i> sesuai Permenkes yaitu 0 per 100 mililiter air.	Uji Laboratorium	Pengukuran keberadaan <i>Escherichia coli</i> di dalam air minum hasil olahan depot air minum dengan metode MPN. Permenkes No. 492/PER/IV/ 2010	Rasio
2	Higiene penjamah depot air minum	Penjamah yang memungkinkan untuk terjadinya risiko kontaminasi karena tidak memakai pakaian khusus, tidak mencuci tangan, merokok dan memiliki riwayat penyakit menular.	<i>Form Checklist dan kuisioner</i>	<i>Observasi</i> dan Wawancara 0 Tidak Memenuhi Syarat 1 Memenuhi Syarat	Ordinal
3	Sanitasi tempat depot air minum	Sanitasi tempat yang menunjukkan lokasi kegiatan, bangunan, dan sarana pelengkap lainnya	<i>Form Checklist dan kuisioner</i>	<i>Observasi</i> dan Wawancara 0 Tidak Memenuhi Syarat 1 Memenuhi Syarat	Ordinal

4	Sanitasi peralatan depot air minum	Sanitasi peralatan yang terdapat pada depot air minum isi ulang seperti tandon penyimpanan air, adanya sterilisasi ultraviolet, peralatan pompa penyalur air dan filter.	<i>Form Checklist dan kuisioner</i>	<i>Observasi dan Wawancara</i> 0 Tidak Memenuhi Syarat 1 Memenuhi Syarat	Ordinal
---	------------------------------------	--	-------------------------------------	--	---------

## H. Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil observasi penilaian analisis sanitasi depot air minum akan di analisis kemudian data yang diperoleh dari pengukuran lalu diolah dengan menggunakan komputer melalui program software kemudian dianalisis secara bivariat untuk mengetahui hubungan antara sanitasi tempat, sanitasi peralatan, dan sanitasi penjamah dengan keberadaan bakteri *Escherichia coli* menggunakan Uji *Fisher exact test* kemudian di sajikan dalam bentuk tabel dan dinarasikan dengan kepustakaan yang relevan dan disesuaikan dengan Permenkes No. 43 Tahun 2014 tentang higiene sanitasi depot air minum dan Kepmenkes RI No. 492/MENKES/Per/IV/2010 tentang syarat-syarat kualitas air yang diperoleh dari hasil pemeriksaan pada 22 sampel AMIU di laboratorium Alam Lestari. Apabila terdapat *Escherichia coli* pada AMIU maka dikatakan tidak memenuhi syarat.