

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 JENIS PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis deskriptif dengan mendapatkan nilai *Most Probable Number* (MPN) pada air sumur yang berada di Dusun Jeruk, Kecamatan Kalidawir, Kabupaten Tulungagung.

3.2 WAKTU DAN TEMPAT

3.2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Dan waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga bulan Februari.

3.2.2 Waktu Dan Tempat Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Dusun Jeruk Desa Jabon Kecamatan Kalidawir Kabupaten Tulungagung. Dan pengambilan sampel dilakukan pada waktu sore hari pukul 15.00 WIB.

3.3 ALAT DAN BAHAN

3.3.1 Alat

Alat yang dilakukan untuk penelitian ini adalah botol sampel, Gelas Ukur 100 ml, Pipet Ukur 10 ml, Tabung Reaksi, Tabung Durham, Rak Tabung, Beaker Glass 600 ml, Ose Bulat, Spatula, Batang Pengaduk, Bola Hisap, Kaca Arloji, Mikropipet 1000 mikro liter, Bunsen spiritus, LAF, Kulkas, Hot Plate, Timbangan Analitik, Oven, Autoklaf, Inkubator

3.3.2 Bahan

Bahan digunakan penelitian adalah : Sampel air sumur dusun Jeruk, Akuades, *Lactose Broth* (LB), *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB), Alkohol 70%, Kapas, Aluminium foil, Kertas perkamen, Kertas label.

3.4 VARIABEL PENELITIAN

Variabel bebas (*independent variable*) pada penelitian ini adalah sampel air sumur di Dusun Jeruk Kecamatan Kalidawir Kabupaten Tulungagung. Dan untuk variabel terikat (*dependent variable*) yaitu bakteri *Coliform*.

3.5 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi Operasional	Metode	Hasil Ukur
1.	Air sumur	Air sumur ini yang dimaksud air sumur untuk kebutuhan sehari-hari	Observasi	Pengamatan warna, bau, dan rasa
2.	Bakteri <i>Coliform</i>	Bakteri ditemukan pada air sumur di Desa Jeruk Kec Kalidawir, Kab Tulungagung	Metode MPN	Jika ada gas di dalam tabung durham maka sampel menunjukkan positif. Dan tidak ada gas dalam tabung durham menunjukkan negatif

3.6 PROSEDUR PENELITIAN

Metode penentuan Total Bakteri *Coliform* menggunakan metode MPN berpedoman SNI 06-4158-1996 tentang metode pengujian jumlah total bakteri golongan koli dalam air dengan tabung fermentasi, metode ini terdiri dari dua tahap pengujian yaitu uji penduga dan uji konfirmasi/uji penegasan.

3.6.1. Sterilisasi Alat

1. Peralatan yang akan digunakan disteril terlebih dahulu.
2. Membungkus alat menggunakan aluminium foil.
3. Sterilisasi alat menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 1,5 jam.

3.6.2 Pengambilan Sampel

1. Menyiapkan botol sampel yang telah steril.
2. Mengambil sampel air secara aseptik.
3. Masing-masing botol diberi label, kemudian botol langsung dibawa ke laboratorium.
4. Sampel siap untuk diperiksa.

3.6.3 Preparasi Sampel

1. Sampel air sumur sebanyak 1 ml dimasukkan dalam 9 ml akuades dengan pengenceran 10^3 .
2. Hasil pengenceran 10^1 diambil 1 ml dan dimasukkan dalam 9 ml akuades dengan pengenceran 10^2 .
3. Hasil pengenceran 10^2 diambil 1 ml dan dimasukkan dalam 9 ml akuades dengan pengenceran 10^3 .

3.6.4 Pembuatan Media dan Pengujian

1. Uji Pendahuluan/Uji Penduga

Media *Lactose Broth* (LB) ditimbang sebanyak 5,8 gram. Media dimasukkan ke dalam beaker glass dan dilarutkan dengan 450 ml akuades. Media dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih dan larut sempurna, pastikan tidak ada yang menggumpal. Menyiapkan 45 tabung reaksi yang telah disterilkan digunakan untuk tempat media, kemudian dimasukkan tabung durham dalam posisi terbalik ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, pipet media LB sebanyak 9 ml dan dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu media ditunggu dingin. Masukkan 1ml benda uji dari masing-masing pengenceran ke dalam tabung reaksi tersebut menggunakan pipet steril, lakukan dekat pembakar bunsen atau lampu spiritus. Inkubasi tabung reaksi berisi media dan benda uji pada suhu 35°C atau 37°C selama 24 jam. Periksa gas yang tertangkap dalam tabung durham dan hasil asam yang ditandai perubahan kuning. . Pindahkan sebanyak 1 atau 2 mata jarum inokulasi cairan dari masing-masing tabung reaksi ke dalam tabung reaksi yang berisi media BGLB, lakukan dekat pembakar bunsen atau lampu spiritus. Inkubasi tabung-tabung reaksi tersebut pada suhu 35°C atau 37°C selama 24 jam. Lanjutkan pengujian tahap penegasan untuk benda uji yang menghasilkan gas atau asam, jika tidak dihasilkan lanjutkan inkubasi

24 jam lagi, jika tidak dihasilkan maka benda uji tidak mengandung total bakteri golongan *Coliform*.

2. Uji Penegasan

Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) ditimbang sebanyak 10,8 gram, dimasukkan ke dalam beaker glass dan dilarutkan dengan 270 ml akuades. Media dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih dan larut sempurna, pastikan tidak ada yang menggumpal. Lalu menyiapkan tabung reaksi untuk memasukkan tabung durham kemudian diisi oleh media sebanyak 9 ml per tabung menggunakan pipet volume. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu media ditunggu dingin. Kocok perlahan-lahan tabung reaksi yang menghasilkan gas atau asam pada tahap pendugaan. Pindahkan sebanyak 1 atau 2 mata jarum inokulasi cairan dari masing-masing tabung reaksi ke dalam tabung reaksi yang berisi BGLB, lakukan dekat pembakar bunsen atau lampu spiritus. Inkubasi tabung-tabung reaksi tersebut pada suhu 35°C atau 37°C selama 48 jam. Apabila menghasilkan gas dalam waktu 48 jam menunjukkan kehadiran total bakteri golongan *Coliform* dalam benda uji. Hitung jumlah tabung yang menghasilkan gas pada setiap seri pengenceran sebagai kombinasi tabung positif. Hitung jumlah total bakteri golongan *Coliform* sebagai JPT/100 ml.

3.7 PENYAJIAN DATA DAN ANALISIS DATA

3.7.1 Penyajian Data

Data disajikan dalam bentuk tabel menunjukkan ada atau tidaknya bakteri dalam air sumur, dan kemudian dijabarkan dalam bentuk narasi dan sehingga dapat menggambarkan karakteristik dari penelitian ini.

Tabel 3. 2 Penyajian Data Uji Penduga media LB

Sampel	0,1 ml						0,01 ml						0,001ml					
	1	2	3	4	5	Jumlah tabung positif	1	2	3	4	5	Jumlah tabung positif	1	2	3	4	5	Jumlah tabung positif
1																		
2																		
3																		

Tabel 3. 3 Penyajian Data Uji Penegas media BGLB

Sampel	Hasil Uji Penegasan			MPN
	10.	10.	10.	
1				
2				
3				

Tabel 3. 4 Gambaran Umum Kondisi Sumur Warga Secara Observasi Langsung

Sampel	Jarak sumur dengan septictank	Hasil Observasi Langsung	Keterangan
1			Memenuhi/Tidak
2			Memenuhi/Tidak
3			Memenuhi/Tidak

3.7.2 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif dan analisa laboratorium dilakukan dengan mencocokkan kombinasi tabung yang positif dengan tabel MPN untuk mengetahui jumlah bakteri *Coliform* yang

terkandung pada sampel air sumur. Hasil analisis yang didapat akan dibandingkan dengan jarak air sumur dengan pencemar yaitu *septic tank*.