

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **4.1 Pendahuluan**

Penelitian terdiri dari dua bagian yaitu penelitian lapangan dan penelitian laboratorium. Penelitian lapangan dilakukan untuk pengamatan sanitasi dan pengambilan sampel sedangkan untuk bakteriologi dilakukan dilaboratorium. Analisis hasil dilakukan setelah percobaan laboratorium. Langkah-langkah dan cara penelitian serta alat yang digunakan dijelaskan sebagai berikut.

#### **4.2 Penelitian Lapangan**

Penelitian lapangan merupakan cara untuk mendapatkan data langsung pada sumbernya. Cara yang dilakukan dengan pengamatan sanitasi, kondisi sumur dan pengambilan sampel air sumur.

##### **4.2.1 Pengamatan Sanitasi**

Pengamatan sanitasi bertujuan mengetahui kondisi fisik sarana air bersih terutama yang berkaitan dengan aspek sanitasi. Pengamatan sanitasi dilakukan dengan cara melihat langsung kondisi sanitasi yang ada. Hasil pengamatan langsung dicatat pada lembar pengamatan sanitasi. ( Lihat lampiran 3)

Dari hasil inspeksi sanitasi, berdasarkan skoring yang ada dapat diketahui tingkat resiko pencemaran dari sarana air bersih. Tingkat resiko pencemaran sarana air bersih dikategorikan sebagai berikut:

- a. Tingkat resiko pencemaran amat tinggi

- b. Tingkat resiko pencemaran tinggi
- c. Tingkat resiko pencemaran sedang
- d. Tingkat resiko pencemaran rendah.

Dari hasil ini dapat diketahui tingkat resiko pencemaran sampel air yang diambil. Sampel yang ada dapat dibagi dalam beberapa katagori sesuai dengan hasil pengamatan yang dapat dilihat pada lembar pengamatan sanitasi dibawah ini. Adapun contoh pengisian lembar pengamatan sanitasi tersebut adalah sebagai berikut:

#### Keterangan Umum

- Lokasi desa Lodadi
- Pemilik Sarana Sulasmi
- Tanggal Pengambilan Sampel 17/ 8 / 1997 Jam 09.45 WIB
- Jarak Jamban dengan Sumur 10 M
- Nomer Kode Sampel Air 4
- Koli Tinja Per 100 ml sampel 20 Kelas B (diisi sesuai kualitas air A/B/C/D/E)

#### Keterangan Khusus

- |  | YA                                  | TIDAK                               |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ■ Apakah ada jamban pada radius 10 M disekitar sumur   | <input type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ■ Apakah ada sumber pencemar lain pada radius 10 m sekitar sumur, misalnya kotoran hewan, sampah, genangan air dll . | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>            |
| ■ Apakah ada/sewaktu-waktu ada genangan air pada jarak 2 (dua) meter sekitar sumur                                   | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/>            |
| ■ Apakah saluran pembuangan air limbah rusak/ tidak ada  | <input type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ■ Apakah lantai semen yang mengitari sumur mempunyai radius kurang dari 1 (satu) meter                               | <input type="checkbox"/>            | <input checked="" type="checkbox"/> |

sumur yang tidak mempunyai samasekali fasilitas jamban keluarga atau sanitasi dan terletak pada lingkungan yang cukup jarang penduduknya.

#### 4.2.3 Pengambilan Sampel

Karena sampel yang diambil merupakan air sumur dan letaknya jauh didalam sumur maka diperlukan alat untuk dapat mengambil air sampel tersebut. Untuk mendapatkan air sampel yang sesuai dengan aslinya yang tidak tercemar oleh alat pengambilan sampel maka alat-alat yang dipergunakan harus terlebih dahulu disterilkan. Adapun alat-alat yang dipergunakan dan cara mensterilkan alat untuk pengambilan sampel serta cara pengambilan sampel adalah sebagai berikut.

##### Alat yang dipergunakan

- a. Botol , yang dipergunakan adalah yang mempunyai sumbat atau penutup yang pas dan kuat agar air yang sudah diambil tidak berkurang jumlahnya. Volume botol yang digunakan 100 ml. Botol beserta sumbatnya dan kertas pembungkus botol harus steril untuk mengurangi terjadinya pencemaran terhadap sampel air yang akan diambil oleh alat pengambilan yang tercemar.
- b. Tali Sanur, kayu dan tali, Untuk mempermudah pengambilan sampel air dipergunakan tali yang diikatkan pada botol . Tali yang dipergunakan panjangnya 20 m, agar tidak kusut dan kotor tali digulung pada kayu, dan diberi pemberat berupa batu yang diikatkan pada ujung tali.

##### Cara Mensterilkan Botol

- a. Botol berukuran 100 ml terlebih dahulu dicuci dengan air aquadest
- b. Untuk mencegah penutup melompat atau lepas selama sterilisasi secarik kertas coklat diselipkan antara penutup dan leher botol

- c. Penutup/sumbat dipasang longgar dan untuk mencegah masuknya debu, selembar kertas coklat diselimutkan sampai ke leher botol
- d. Botol dimasukkan kedalam otoklaf selama 30 menit dengan temperatur 121 °C
- e. Botol dikeluarkan dari otoklaf dan didinginkan
- f. Botol dimasukkan kedalam tas lapangan yang dipergunakan untuk membawa botol yang sudah disterilkan

#### Cara Pengambilan Sampel dari Sumur

- a. Didekat sumur, ikatkan batu ukuran yang cukup dengan tali pada botol sampel
- b. Ambil tali bersih panjang 20 m yang digulung pada kayu dan dikaitkan pada botol
- c. Buka selimut kertas coklat dan penutup/sumbat pada botol
- d. Turunkan botol kedalam sumur dengan pemberat batu, lepas gulungan tali perlahan-lahan. Botol diusahakan tidak menyentuh dinding sumur.
- e. Tenggelamkan botol sepenuhnya kedalam air sampai ke dasar sumur
- f. Bila botol sudah terisi, tali digulung kembali pada kayu untuk membawa botol yang telah penuh air ke atas. Buang sebagian airnya bila botol terlalu penuh supaya ada ruang udara.
- g. Botol disumbat atau ditutup dengan memutar kemudian dilindungi dengan dimanteli kertas coklat
- h. Botol yang sudah siap diberi kode nomer pengambilan sampel kemudian dimasukkan kedalam kotak yang sudah tersedia

Pengambilan sampel dilakukan di empat desa yaitu desa Lodadi, desa Rejosari, desa Candi Dukuh I, dan Candi Dukuh II yang dipilih secara acak dari pukul 08.30 - 12.00 wib. Sampel yang diambil sebanyak 45 sampel.

### 4.3 Penelitian Laboratorium

Dalam melaksanakan penelitian laboratorium, alat merupakan salah satu komponen penting penunjang keberhasilan penelitian. Untuk itu perlu diketahui cara penggunaannya.

#### 4.3.1 Alat yang dipergunakan

- a. **Otoklaf.** Prinsip kerja dari alat ini adalah sterilisasi dengan uap air yang dipanaskan dengan suhu  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, bila dipergunakan untuk penelitian bakteri coli tinja.
- b. **Inkubator** Alat ini dilengkapi dengan suatu pengatur suhu digital yang dapat diatur sesuai dengan kebutuhan dan dapat mempertahankan suatu nilai temperatur yang sesuai dengan besarnya suhu untuk penelitian bakteri coli tinja yaitu  $\pm 44\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Didalamnya harus cukup luas sehingga pada waktu inkubator penuh udara bisa mengalir bebas. Setelah sampel dimasukkan kedalam inkubator, dibuka kembali 24 jam kemudian.
- c. **pH meter.** Alat ini dipergunakan untuk mengecek pH dari media
- d. **Timbangan.** Alat diperlukan untuk menimbang media biakan dan untuk menimbang bahan kimia yang dipergunakan untuk mempersiapkan larutan.
- e. **Pipet.** Yang diperlukan adalah pipet-pipet (1 dan 10 ml) dengan menutup kapas pada bagian mulutnya. Pipet-pipet 1ml harus bertanda pengukuran dengan gradasi penambahan setiap 0,1 ml. Pipet dibungkus dengan kertas coklat , kemudian disterilisasikan.

- f. Peralatan untuk mempersiapkan media. Tempat terbuat dari gelas dan stainless stell. Semua peralatan pemanas dan pengaduk yang dipergunakan untuk mempersiapkan media harus bersih dan bebas dari bahan beracun yang larut.
- g. Tabung reaksi . Tabung reaksi berukuran sedemikian rupa sehingga tabung dapat terisi penuh dengan media dan paling sedikit sebagian tercelup didalam tabung
- h. Penyedot air, pompa hampa listrik (Vacum Pump) bisa menghampakan paling sedikit setengah tekanan atmosfer
- i. Gelas Erlenmeyer satu liter (sidearm flask) yang dilengkapi dengan slang karet yang berdinding kuat tebal untuk menahan jangan sampai kempis pada waktu penghampaan dilaksanakan
- j. Penumpu saringan terdiri dari atas atau penahan saringan yang berlubang lubang yang menonjol diatas gelas Erlenmeyer, dengan menggunakan penutup karet bersama dengan sebuah kontener yang ditempelkan pada tumpuan yang berlubang. Kedua bagian penumpu saringan dibungkus dalam kertas secara terpisah dan disterilkan didalam otoklaf selama 30 menit pada  $121^{\circ}\text{C}$
- k. Cawan gelas berbentuk lingkaran dengan diameter 50 mm
- l. Saringan membran, garis tengah 47-50 mm dan garis tengah pori-pori 0,45 mikron. Saringan membran steril dikemas satu-satu sebanyak 100 lembar perkotaknya. Saringan membran dipergunakan untuk menyaring air sampel.
- m. Lapisan nutrial absorban terdiri dari kertas saringan bulat tebal 1mm dan menjadi satu kemasan dengan saringan membran, mempunyai garis tengah sama dengan

diameter saringan membran. Lapisan nutrial dipergunakan untuk meletakkan media untuk pembiakan bakteri

- n. **Pinset** Alat yang dipergunakan untuk memindahkan saringan membran dari kemasan ke penumpu berlubang dan dari penumpu berlubang ke cawan gelas
- o. **Streo Microscop** Alat pembesar yang dapat meperbesar objek 20 x lebih besar guna memeriksa dan menghitung koloni yang ada pada saringan membran
- p. **Colony Counter** Alat yang dipergunakan untuk menghitung koloni yang ada pada saringan membran dengan cara meletakkan cawan dengan saringan membran didalamnya diatas colony counter, kemudian setiap bakteri yang terdeteksi ditekan dengan pinset atau kawat maka jumlah bakteri yang ditekan akan terbaca di pencatat bakteri yang ada pada alat tersebut.

#### 4.3.2 Media Biakkan

Campuran yang dipergunakan dalam media biakkan ini adalah 3,7 gram Mfc Broth Base dilarutkan dalam 100 ml Aquadest ditambah R. Osolic Acid 1% sebanyak 1 ml.

#### 4.3.3. Cara Penelitian

- a. Hubungkan botol Erlenmeyer dengan alat penghampa (Vacum Pump) dan letakkan tumpuan berlubang tepat ditempatnya.
- b. Buka cawan Petri dan letakkan lapisan nutrial disini
- c. Dengan mempergunakan pipet steril tambahkan 2 ml media kaldu Mfc Broth Base yang terpilih untuk membasahi lapisan sampai jenuh
- d. Merakit unit filtrasi dengan cara meletakkan sebuah Membran Filter steril diatas penumpu berlubang dengan mempergunakan pinset yang telah dibakar disterilkan

- e. Letakkan kontener atas ditempatnya dan kuatkan dengan klem khusus.
- f. Tuangkan 20 ml volume sampel air. Lakukan penghampaan dengan mempergunakan Vacum Pump.
- g. Setelah sampel melewati filter, Matikan Vacum Pump dan cuci kontener dengan 20-30 ml air pengencer steril.
- h. Angkat bagian unit filtrasi dengan menggunakan pinset, letakkan saringan membran di dalam cawan Petri diatas lapisan dengan kisi-kisi sebelah atas. Harus tidak ada gelembung udara tertahan antara lapisan dan saringan
- i. Balik cawan Petri untuk kemudian diinkubasi
- j. Letakkan didalam inkubator pada  $44^{\circ} C \pm 0,5^{\circ} C$  selama 24 jam dengan kelembaban 100%
- k. Setelah 24 Jam Petri dikeluarkan dari inkubator kemudian dihitung jumlah koloni yang ada

Untuk mempermudah penghitungan koioni digunakan alat bantu Streo Microscop yang dapat memperbesar objek 20 kali lebih besar dan Colony Counter. Koloni bakteri golongan koli tinja yang dihitung akan berwarna biru. Sedangkan koloni yang bukan koli tinja akan berwarna abu-abu atau krem. Jumlah golongan koli tinja per 100 ml sampel dapat dihitung dengan rumus dibawah ini:

$$\text{Koli Tinja} = \frac{\text{Jumlah koloni koli tinja}}{\text{ml sampel disaring}} \times 100$$



#### 4.3.4. Analisis Hasil Penelitian

Dari hasil pengamatan lapangan dapat diketahui tingkat resiko pencemaran dan jarak masing-masing sumur terhadap jamban. Dari hasil penelitian laboratorium akan diketahui jumlah bakteri Coli per 100 ml dan kelas jumlah bakteri tersebut. Dan dari semua penelitian ini dapat dilihat adakah pengaruh jarak terhadap pencemaran air sumur oleh bakteri Coli.

