

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, yaitu penelitian yang dapat menguji secara benar hipotesis menyangkut hubungan kausal (sebab akibat).⁶⁹ Penelitian merupakan upaya untuk mengetahui pengaruh lama waktu penyinaran menggunakan sinar ultraviolet (UV) terhadap kualitas mikrobiologi air minum isi ulang.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah jumlah keseluruhan air minum isi ulang berbahan baku air tanah (sumur bor).

2. Sampel

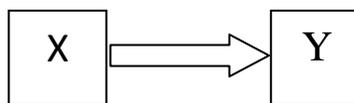
Sampel penelitian adalah air minum isi ulang berbahan baku air tanah yang diambil dari depot terpilih yang dianalisis berdasarkan kualitas mikrobiologi air. Tahapan pengambilan sampel dilakukan dengan dua kali tahapan, yakni pemilihan sampel depot dan pengambilan sampel air.

⁶⁹ Emzir, *Metodologi Penelitian Pendidikan : Kuantitatif dan Kualitatif*, Jakarta, Rajawali Pers, 2012, h. 64

A. Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengaruh penggunaan lama waktu penyinaran dengan sinar ultraviolet (UV) pada air, yang bersumber dari air minum isi ulang yang berbahan baku air tanah, sedangkan variabel terikatnya adalah kualitas mikrobiologi air, yang diukur menggunakan metode MPN *Coliform*.

Penelitian ini mengkaji hubungan sebab akibat antara variabel bebas dan variabel terikat, sebagaimana disajikan pada Gambar 3.1 berikut:



Gambar 3.1 Paradigma Penelitian Yang Menunjukkan Hubungan Komparatif Antara Variabel X dan Y

Keterangan:

X : Variabel bebas dalam penelitian

Y: Variabel terikat

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 24 Mei sampai 24 Juni 2014. Adapun tempat penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi STAIN Palangkaraya.

B. Instrumen Penelitian

Instrumen untuk mencari data depot air minum isi ulang di kecamatan Jekan Raya menggunakan angket dan kuisisioner responden. Data depot air minum isi ulang selanjutnya didukung dari data yang terdaftar pada Dinas Perindustrian dan Perdagangan (DisPerinDag) wilayah kota Palangkaraya.

Adapun instrumen untuk memperoleh data kualitas mikrobiologi air minum isi ulang dengan melakukan analisis menggunakan alat dan bahan sebagai berikut:

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat untuk analisa yang meliputi: Botol dengan volume 100 ml, Gelas ukur 10 ml, Beaker glass 100 ml, Labu takar 500 ml, Tabung reaksi, Tabung reaksi tertutup, Tabung Durham, Tabung Fermentasi, Pipet tetes, Mikropipet, Cawan petri, *Laminar Air Flow*, (LAF), Oven, kompor gas, autoclave, neraca digital, Inkubator, dan Hot Plate dengan stiker magnetik, serta sinar Ultraviolet.

b. Bahan

Untuk uji kualitasnya digunakan bahan seperti: sampel air minum isi ulang berbahan baku air tanah di Kecamatan Jekan Raya kota Palangkaraya, Kaldu Laktosa (*Beef Extract, Pepton, Laktosa dan Aquades*), *Brilliant Green Lactose Bile Broth (Pepton, Laktosa, Oxgall Hijau Brillian, Aquades)*, *Mac Concey Agar (Pepton, Proteose Pepton, Laktosa, Agar powder, Aquades)*, Kapas, Alkohol 70%, Vaseline, dan kertas sampul.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya.⁷⁰

⁷⁰ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi*, Palembang: USP, 2010, h. 34.

Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa lama penyinaran 20 menit mampu menurunkan jumlah *Escherichia coli* melalui proses Fotokatalis dengan katalis TiO_2 dan sinar UV 15 watt.⁷¹ Hasil penelitian tersebut selanjutnya dijadikan landasan dalam penyusunan rentangan dan taraf perlakuan penelitian, yaitu disusun dalam 8 (delapan) taraf berikut:

P₀ = Penyinaran 0 menit

P₁ = Penyinaran 5 menit

P₂ = Penyinaran 10 menit

P₃ = Penyinaran 15 menit

P₄ = Penyinaran 20 menit

P₅ = Penyinaran 25 menit

P₆ = Penyinaran 30 menit

P₇ = Penyinaran 35 menit

Jumlah ulangan ditentukan berdasarkan rumus: $(t-1)(r-1) \geq 15$, dimana t adalah perlakuan dan r adalah ulangan.⁷² Berdasarkan rumus tersebut maka diperoleh jumlah ulangan adalah sebanyak 3 kali, sehingga total unit penelitian adalah 8 taraf x 3 ulangan = 24 unit penelitian. Adapun perhitungan ulangan adalah sebagai berikut:

⁷¹ Rachmat Boedisantoso, *Uji Penurunan Jumlah Escheria coli Menggunakan Proses Fotokatalis dengan Katalis TiO_2 dan Sinar UV 15 Watt*,

⁷² *Ibid*, h. 34.

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(8 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$7r - 7 \geq 15$$

$$7r \geq 15 + 7$$

$$7r \geq 22$$

$$r \geq \frac{22}{7} = 3,1 \approx 3.$$

D. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan adalah pengambilan data sampel depot, pengambilan data sampel air dan analisis sampel air.

a. Pemilihan Sampel Depot Air Minum Isi Ulang

Pengambilan sampel depot air minum isi ulang yang berbahan baku air tanah dilakukan dengan menghitung seluruh jumlah depot air minum isi ulang di 4 kelurahan yang ada di kecamatan Jekan Raya, kota Palangkaraya, yaitu sebanyak 31 depot air minum isi ulang yang tersebar di berbagai kelurahan diantaranya:

1. Kelurahan Bukit Tunggul
= 8 depot
2. Kelurahan Menteng = 12
depot
3. Kelurahan Palangka = 11
depot

Total = 31 depot⁷³

b. Pengambilan Sampel Air Minum Isi Ulang

Pengambilan sampel air minum isi ulang dilakukan dengan teknik *cluster sampling* dari semua depot air minum berbahan baku air tanah. Pengambilan sampel depot tersebut dengan 1 depot air minum isi ulang berbahan baku air tanah terpilih sebagai tempat penelitian dengan jumlah air 250 ml dengan 8 taraf pengujian menggunakan sinar ultraviolet. Selanjutnya, dianalisis secara laboratoris kualitas air tersebut dengan parameter kualitas mikrobiologinya.

E. Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah analisis varians (ANOVA) yang merupakan sebuah teknik inferensial yang digunakan untuk menguji perbedaan rerata nilai.⁷⁴ Adapun langkah-langkahnya yang dapat disederhanakan sebagai berikut:

1. Tabel 3.1 Contoh Tabel Data Hasil Pengamatan.

No	Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{x}
		U ₁	U ₂	U ₃		
1.	P ₀ (0 menit)					
2.	P ₁ (5 menit)					
3.	P ₂ (10 menit)					

⁷³ Hasil observasi jumlah depot di Kecamatan Jekan Raya kota Palangkaraya.

⁷⁴ *Buku Cara Uji Air dan Air Limbah di Jawa Timur*, Biro Bina Kependudukan dan Lingkungan Hidup Sekretariat Wilayah/Daerah Tingkat I Jawa Timur, 1990, h. 517

4.	P ₃ (15 menit)					
5.	P ₄ (20 menit)					
6.	P ₅ (25 menit)					
7.	P ₆ (30 menit)					
8.	P ₇ (35 menit)					

2. Menghitung Faktor Koreksi (FK) :⁷⁵

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(\sum X_{total})^2}{n}$$

3. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK) :⁷⁶

$$JK_{Total} = (\sum XT_{total}^2) - FK$$

$$JK_{Perlakuan} = \frac{(P_1)^2 + (P_2)^2 + (P_3)^2 + (P_4)^2 + (P_5)^2}{N_{Ulangan}} - FK$$

$$JK_{Galat} = JK_{Total} - JK_{Perlakuan}$$

4. Menghitung Derajat Bebas (db) :⁷⁷

$$Db_{Perlakuan} = (t - 1)$$

$$Db_{Galat} = t (r - 1)$$

$$Db_{Total} = (t \cdot r) - 1$$

5. Menghitung Kuadrat Tengah (KT) :⁷⁸

$$KT_{Perlakuan} = \frac{JK_{Perlakuan}}{db_{Perlakuan}}$$

⁷⁵ *Ibid*, h.28.

⁷⁶ *Ibid*. h.28.

⁷⁷ *Ibid*. h.30.

⁷⁸ *Ibid*, h.30.

$$KT_{\text{Galat}} = \frac{JK_{\text{Galat}}}{db_{\text{Galat}}}$$

6. Menghitung harga F_{hitung} :⁷⁹

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KT_{\text{Perlakuan}}}{KT_{\text{Galat}}}$$

7. Menghitung harga Koefisien Keragaman (KK) :⁸⁰

Koefisien keragaman (KK) bertujuan untuk mengukur besarnya variasi data yang dinyatakan dalam satuan persen (%). Makin kecil harga KK, maka variasi data akan makin besar pula.

Rumus menghitung KK adalah :⁸¹

$$KK = \sqrt{\frac{KT_{\text{Galat}}}{\bar{X}}} \times 100\%$$

8. Membuat tabel ringkasan Analisis Variansi :

Tabel 3.2 Contoh Tabel Ringkasan Analisis Variansi.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F_{Hitung}	F_{Tabel}	
					5 %	1 %
Perlakuan						
Galat						
Total						

9. Pengujian Hipotesis

Hipotesis yang dilakukan pada penelitian ini disusun dalam bentuk hipotesis statistik, yaitu :

⁷⁹ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan & Teori Aplikasi*, Palembang: USP, 2001, h.30.

⁸⁰ *Ibid*, h.31.

⁸¹ *Ibid*, h. 34

H_0 = Tidak ada pengaruh penyinaran dengan menggunakan sinar ultraviolet terhadap kualitas mikrobiologi air minum.

H_1 = Ada pengaruh penyinaran dengan menggunakan sinar ultraviolet terhadap kualitas mikrobiologi air minum.

Hipotesis statistik ini diuji dengan cara membandingkan harga F_{hitung} dengan F_{tabel} . Adapun kriteria pengujian hipotesis adalah sebagai berikut :

- 1) Jika harga $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ 5 % berarti H_0 diterima, sedangkan H_1 ditolak dan dinyatakan bahwa perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata.
- 2) Jika harga $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ 5 % berarti H_0 ditolak, sedangkan H_1 diterima dan dinyatakan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata atau diterima.

Apabila $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ 1 % maka dapat dinyatakan perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji BNT 1 %

$$BNT\ 1\ \% = t\ 1\ \% (db\ galat) \times \sqrt{\frac{2 \times k \times T\ galat}{ulangan}}$$

F. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari 3 (tiga) tahap, yaitu tahap persiapan alat dan bahan, tahap uji kualitas air, dan tahap analisis data. Tahapan uji kualitas mikrobiologi air yaitu tahapan uji pendugaan, tahapan penegasan dan tahapan kepastian.

1. **Tahapan Uji Persiapan Alat dan Bahan**

**a. Persiapan Alat dan Bahan
untuk Uji Pendugaan**

Pembuatan medium Kaldu Laktosa (KL) dengan ketentuan perbandingan sebagai berikut:

1. *Beef* (3 gram)
 2. *Pepton* (5 gram)
 3. *Lactose* (5 gram)
 4. Aquades 1000 ml
- a. Memasukkan seluruh bahan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml, kemudian memanaskan medium dengan menggunakan hotplate sambil diaduk secara terus menerus dan perlahan-lahan sampai medium larut homogen sempurna.
 - b. Memasukkan medium kaldu *lactose* sebanyak 4 ml ke dalam 9 tabung reaksi, kemudian memasukkan kembali kaldu laktosa tersebut dari tabung reaksi yang berisi medium kaldu laktosa ke dalam 9 tabung Durham.
 - c. Menyumbat seluruh tabung reaksi yang berisi tabung Durham dan medium kaldu laktosa dengan kapas steril yang sudah dipersiapkan.

b. Persiapan Alat dan Bahan untuk Uji Penegasan

Pembuatan medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) dengan ketentuan perbandingan sebagai berikut:

1. Serbuk BGLBB (40 gram)

2. Aquades 1000 ml
 - a. Seluruh bahan yang sudah disiapkan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk perlahan-lahan dan terus menerus sampai medium tersebut larut homogen sempurna.
 - b. Selanjutnya medium tersebut dimasukkan ke dalam 9 tabung Durham yang telah dipersiapkan, selanjutnya 27 tabung yang telah terisi medium BGLBB tersebut dimasukkan ke dalam 21 tabung reaksi yang berisi aquades steril.
 - c. Proses selanjutnya adalah menyumbat tabung tersebut dengan kapas steril.

c. Persiapan Alat dan Bahan Untuk Uji Kepastian

Pembuatan medium *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Serbuk MCA (50 gram)
2. Aquades 1000 ml
 - a. Memasukan seluruh bahan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, kemudian memanaskannya sambil mengaduk perlahan-lahan dan terus menerus sampai larut homogen sempurna.
 - b. Memasukan medium MCA yang telah siap sebanyak 10 ml kemudian menuanginya ke dalam 9 cawan petri dengan perlahan-lahan dan (menghindari terjadinya gelembung pada permukaan medium dalam cawan).

- c. Membungkus seluruh medium MCA yang telah disiapkan dengan kertas sampul coklat, masing-masing kertas terdiri dari 3-4 cawan petri, kemudian mengikat (menyatukan) dengan menggunakan tali kasur.
- d. Memasukkan semua medium KL, BGLBB, dan MCA yang telah disiapkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan.

d. Sterilisasi Alat dan Bahan Medium

Adapun sterilisasi alat dan bahan medium, yaitu:

1. Mengisi autoklaf dengan air sebatas sarangan.
2. Mengoleskan vaselin dengan tipis dan merata pada tepi autoklaf pada bagian tempat dan tutupnya.
3. Memasukkan semua alat dan bahan yang akan disterilisasikan ke dalam autoklaf, memasukkan selang uap autoklaf pada bagian lubang, memposisikan tanda panah pada tutup dan wadah autoklaf sebelum diratakan kedudukan tutupnya, meratakan bagian tutup autoklaf sampai benar-benar seimbang, kemudian mengunci dengan sempurna.
4. Mengatur posisi katup autoklaf dengan posisi tegak, kemudian melipat katup sampai pada posisi mendatar.
5. Menunggu sampai pada keluar uap air pada lubang katup, kemudian melipat katup sampai pada posisi mendatar.

6. Menunggu sampai jarum manometer menunjukkan angka 15, berarti tekanan di dalam autoklaf telah mencapai 15 lbs, mengatur panas sampai tekanan tetap bertahan pada posisi 15 lbs selama 15 menit.
7. Setelah 15 menit, mematikan arus listrik. Kemudian menunggu sampai tekanan pada jarum manometer kembali normal, yaitu pada posisi 0 kembali.
8. Menegakkan posisi katup uap autoklaf, kemudian membuka autoklaf dan mengeluarkan dengan perlahan semua alat dan bahan yang ada di dalam autoklaf.
9. Meletakkan semua alat dan bahan yang dari dalam autoklaf ke atas nampan, meletakkan pada posisi mendatar untuk memperoleh medium lempeng. Meletakkan pada posisi miring untuk tabung reaksi sebagai medium miring.
10. Menunggu 1-3 hari. Jika medium tetap bersih dan tidak ditumbuhi jamur atau bakteri, maka medium dapat digunakan. Jika medium belum dipakai dalam waktu dekat, medium dapat disimpan di dalam lemari es, dengan membungkusnya menggunakan kertas sampul.⁸²

e. Tahapan Uji Kualitas Air

1. Uji Pendugaan

⁸² Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangkaraya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangkaraya, 2013, h. 2-3

Uji pendugaan menggunakan medium kaldu laktosa (KL) adalah untuk melihat ada tidaknya kandungan *Coliform*, yang ditandai dengan adanya gelembung pada dasar tabung Durham pada inkubasi 1-2 x 24 jam. Adapun cara kerja pada uji pendugaan, antara lain:

- a) Menyediakan 100 ml sampel air tanah yang akan diperiksa. Menyiapkan juga 3 tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades dan 9 tabung reaksi berisi Durham yang telah diisi 4 ml medium kaldu laktosa.
- b) Secara aseptik menginokulasi 1 ml sampel air tanah ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril, kemudian dikocok.
- c) Melakukan pengenceran dengan dengan cara yang sama sehingga diperoleh pengenceran 1:100 dan 1:1000.
- d) Menyiapkan 9 tabung reaksi berisi tabung Durham yang telah diisi 4 ml medium kaldu *lactose*.
- e) Secara aseptik menginokulasikan 1 ml sampel dengan pengenceran 1:10 pada tabung yang berlabel A_1, A_2, A_3 , kemudian 1 ml sampel dengan pengenceran 1:100 pada tabung yang berlabel B_1, B_2, B_3 , dan 1 ml sampel dengan pengenceran 1:1000 pada tabung yang berlabel C_1, C_2, C_3 .
- f) Menginkubasi semua tabung reaksi pada suhu $37,5^{\circ}\text{C}$ selama 1x24 jam. Jika timbul gas pada dasar tabung Durham dilanjutkan dengan uji penegasan. Jika tidak ada gas maka menunggu 1x24

jam selanjutnya. Jika tetap tidak ada gas maka sampel air tidak perlu diperiksa lebih lanjut lagi.

2. Uji Penegasan

Untuk uji penegasan menggunakan medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB), pada taraf uji penegasan ini adalah untuk melihat dan menegaskan bahwa *Coliform* tersebut *fecal* ataukah *non fecal*. Adapun cara kerja uji penegasan, antara lain:

- a) Melakukan inokulasi sampel air tanah yang menghasilkan gas pada uji pendugaan. Perlakuan seperti tes pendugaan tetapi yang digunakan ialah medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth* sebanyak 9 tabung reaksi 4 ml.
- b) Memasukkan semua tabung reaksi ini dalam inkubator pada suhu 45°C selama 1 x 24 jam. Jika terdapat gas pada bagian dasar tabung Durham berarti dalam sampel air tanah terdapat bakteri *Coliform fecal*. Jika tidak ada gas maka menunggu sampai 2x24 jam. Jika ada gas berarti sampel air ini juga mengandung bakteri *Coliform fecal*.

3. Uji Kepastian

Untuk uji kepastian medium yang digunakan adalah *Mac Concey Agar* (MCA), medium ini digunakan untuk memastikan dan melihat jumlah koloni *Escherichia coli* pada medium. Tahapannya adalah:

- Melakukan inokulasi satu tetes sampel biakan dalam tabung *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) yang positif pada uji penegasan pada medium *Mac Concey Agar* (MCA) secara merata.
- Menginkubasikan pada suhu 37°C selama 1-2x24 jam.
- Mengamati koloni bakteri yang mampu memfermentasikan laktosa, sedangkan koloni yang tidak berwarna merupakan koloni yang tidak mampu memfermentasikan laktosa.
- Menghitung jumlah koloni yang tumbuh di permukaan medium tersebut.

