

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik dengan rancangan penelitian *post test only*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pendekatan *Cross-Sectional*.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi adalah sejumlah besar subyek dengan karakteristik tertentu (Sastroasmoro, *et al.*, 2011). Dalam penelitian ini yang menjadi populasi adalah seluruh antiseptik yang berada di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Kota Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel adalah subset (bagian) dari populasi yang dipilih dimana memenuhi kriteria yang dianggap dapat mewakili populasinya (Sastroasmoro, *et al.*, 2011). Dalam penelitian ini yang menjadi sampel dari populasi yang ada yaitu antiseptik yang ditempatkan pada ruang administrasi, ruang rawat inap, ruang instalasi gawat darurat, dan ruang instalasi rawat intensif.

Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *random sampling*, yaitu suatu cara pengambilan sample yang memberikan kesempatan atau peluang yang sama untuk diambil kepada setiap elemen populasi. (Notoatmodjo, 2005).

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Kota Yogyakarta untuk pengambilan sampel antiseptik pada beberapa zona risiko infeksi, dan pengukuran koefisien fenol antiseptik terhadap penempatannya yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan dalam jangka waktu 2 bulan (November-Desember 2016).

D. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi:

a. Variabel bebas :

Penempatan antiseptik yang terbagi menjadi 4 zona, yaitu zona risiko rendah infeksi (ruang administrasi), zona risiko sedang infeksi (bangsal penyakit tidak menular), zona risiko tinggi infeksi (UGD), dan zona risiko tertinggi infeksi (ICU).

b. Variabel tergantung/terikat :

Nilai koefisien fenol antiseptik

E. Definisi Operasional

1. Antiseptik

Antiseptik merupakan bahan kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur, bakteri, dan virus. Antiseptik yang dipakai dalam penelitian ini yaitu antiseptik “Onemed” yang merupakan antiseptik gel dengan kandungan ethyl alkohol 70% di RSUD Kota Yogyakarta.

2. Efektivitas Antiseptik

Efektivitas antiseptik yaitu kemampuan suatu antiseptik untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri, jamur, dan virus) yang diukur dengan menggunakan uji koefisien fenol.

3. Koefisien Fenol

Koefisien Fenol adalah perbandingan antara pengenceran tertinggi dari antiseptik dengan pengenceran tertinggi fenol, dan merupakan indikasi untuk menentukan efektivitas dari suatu antiseptik. Dengan interpretasi jika nilai koefisien fenol kurang dari satu maka antiseptik tersebut tidak efektif, dan jika nilai koefisien fenol lebih dari satu maka antiseptik tersebut dinyatakan efektif.

4. Zona Risiko Infeksi

Zona risiko infeksi merupakan pembagian zona yang terdapat pada Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Kota Yogyakarta yang dibagi berdasarkan risiko infeksi. Zona risiko infeksi di RSUD Kota Yogyakarta dibagi menjadi empat zona, yaitu zona risiko rendah infeksi pada ruang administrasi, zona risiko sedang infeksi pada bangsal penyakit tidak menular (bangsal kenanga), zona risiko tinggi infeksi pada unit gawat darurat (UGD), dan zona risiko tertinggi infeksi pada *Intensive Care Unit* (ICU).

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah inkubator, rak dan tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, cawan petri, kapas, bunsen, ose, Larutan

standart *Mc Farland, counter*, sarung tangan dan alat tulis kantor, serta peralatan lainnya yang dipergunakan di Laboratorium Mikrobiologi

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitiap ini adalah antiseptik gel merk “*onemed*” yang mengandung alkohol 70%, fenol 5%, NaCl fisiologis 0,9 %, *Nutrien agar*, dan isolate bakteri *Staphylococcus aureus*.

G. Jalannya Penelitian

1. Tahap Persiapan Penelitian

Tahap persiapan penelitian mencakup perumusan masalah, penyusunan proposal, persiapan alat dan bahan penelitian, dan sterilisasi alat.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel antiseptik dilakukan di RSUD Kota Yogyakarta dengan 4 kali pengambilan pada 4 penempatan antiseptik berbeda di 4 zona risiko infeksi.

b. Uji Koefisien Fenol

Uji koefisien fenol digunakan untuk membandingkan aktivitas antimikroba dari komponen-komponen kimia dengan fenol sebagai standar uji. Pengenceran antiseptik secara bertahap ditempatkan dalam tabung reaksi steril, kultur murni bakteri yang digunakan sebagai standar ditambahkan pada setiap tabung. Bakteri tersebut dimasukkan pada setiap tabung dan petridish

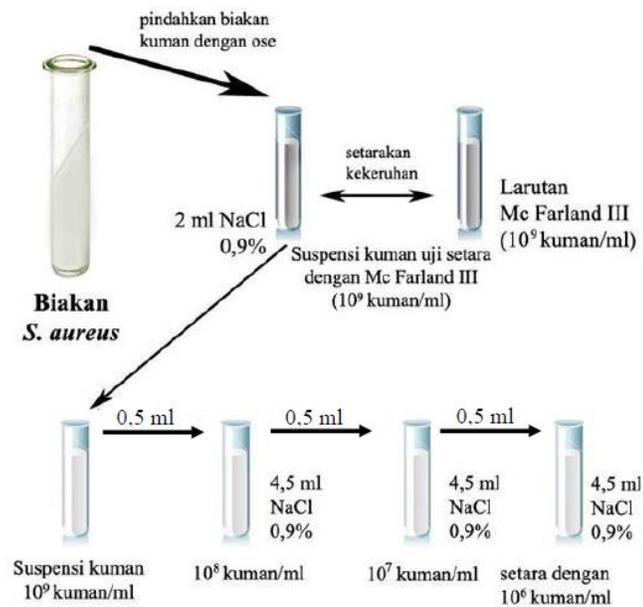
dengan interval waktu 5, 10, dan 15 menit. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° selama 24 jam dan dilihat kekeruhannya.

1) Pembuatan inokulum bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* sebelumnya telah ditanam pada agar nutrisi (*Nutrient Agar*) miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

Tahap pengenceran bakteri uji adalah sebagai berikut:

- a. siapkan tabung reaksi berisi 2 ml NaCl fisiologis 0,9%
- b. pindahkan biakan *S. aureus* tersebut ke dalam larutan NaCl dengan ose, dan setarakan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland III (10^9 kuman/ml)
- c. suspensi kuman tersebut kini diperkirakan berisi 10^9 kuman/ml
- d. siapkan 3 buah tabung reaksi masing-masing berisi 4,5 ml NaCl fisiologis 0,9%
- e. pipet 0,5 ml dari suspensi kuman sebelumnya (10^9 kuman/ml), pindahkan ke salah satu tabung reaksi berisi 4,5 ml NaCl. suspensi kuman kini berkonsentrasi 10^8 kuman/ml
- f. lakukan pengenceran kedua dengan mengambil 0,5 ml dari suspensi kuman 10^8 kuman/ml dan memindahkannya ke dalam tabung berisi 4,5 NaCl yang kedua. suspensi kuman kini berkonsentrasi 10^7 kuman/ml
- g. pengenceran terakhir dilakukan dengan memindahkan 0,5 ml dari suspensi kuman 10^7 ke dalam tabung terakhir NaCl. Suspensi kuman telah setara dengan 10^6 kuman/ml. suspensi bakteri dengan konsentrasi inilah yang akan digunakan untuk melakukan penelitian.

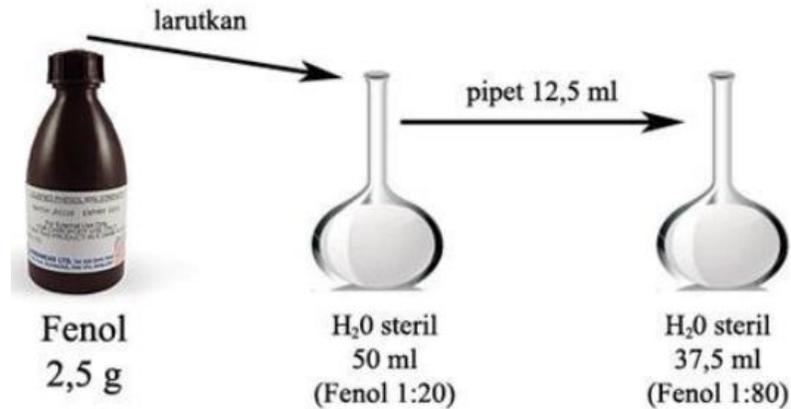


Gambar 3. Inokulum *S. Aureus*

2) Pembuatan fenol standar

Pembuatan fenol standar dengan konsentrasi sebagai berikut:

Membuat larutan persediaan baku fenol 5% dengan cara menimbang 2,5 gr fenol dalam 50 ml air suling steril. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi menjadi 1:80 dengan memipet 12,5 ml larutan fenol 5% ditambahkan dengan 37,5 ml air suling steril.

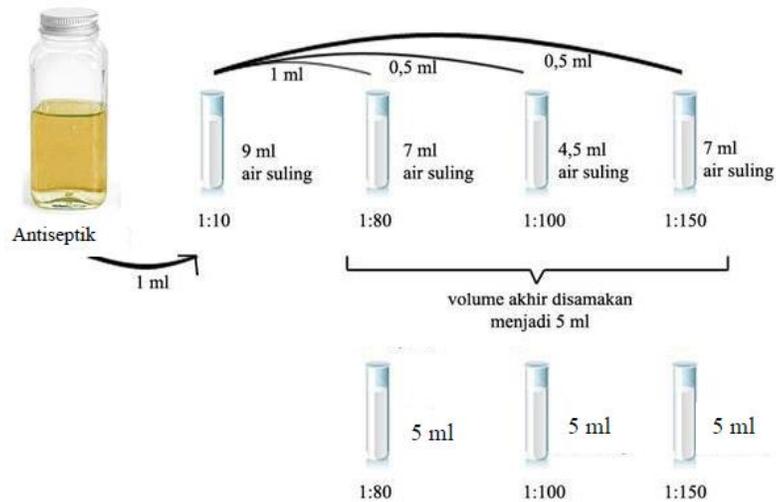


Gambar 4. Pembuatan Fenol Standar

3) Pengenceran antiseptik

Pengenceran antiseptik dibuat dengan konsentrasi sebagai berikut:

- a. siapkan 4 buah tabung steril berisi akuades dengan volume yang berbeda-beda di dalamnya yaitu 9 ml, 7 ml, 4,5 ml, dan 7 ml, secara berurutan
- b. lakukan pengenceran pertama dengan memipet 1 ml larutan antiseptik ke dalam 9 ml air suling sehingga konsentrasi menjadi 1:10
- c. pengenceran selanjutnya adalah dengan memindahkan 1 ml antiseptik 1:10 ke dalam tabung berisi 7 ml air suling. Konsentrasi antiseptik pada tabung ini adalah 1:80
- d. pindahkan 0,5 ml antiseptik 1:80 ke dalam 4,5 ml akuades sehingga konsentrasi kini 1:100
- e. pipet 0,5 ml antiseptik 1:100 ke dalam tabung berisi 7 ml air suling sehingga konsentrasi pada tabung ini adalah 1:150
- f. antiseptik yang akan digunakan selanjutnya adalah yang konsentrasi 1:80, 1:100, dan 1:150. oleh karena itu, volume disamakan masing-masing menjadi 5 ml.



Gambar 5. Pengenceran Antiseptik

4) Pemeriksaan Koefisien Fenol

Pemeriksaan koefisien fenol dilakukan dengan langkah sebagai berikut :

- formulasi bakteri masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi pengenceran fenol dan pengenceran antiseptik (dengan perhitungan waktu agar tidak lebih dari 5 menit) dengan volume 0,1 ml.
- petridish yang berisi *Nutrient Agar* (NA) masing-masing diberi kode pengenceran untuk fenol dan antiseptik.
- setelah 5 menit, setiap pengenceran ditanam pada *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose.
- setelah 10 menit, setiap pengenceran ditanam pada *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose.
- setelah 15 menit, setiap pengenceran ditanam pada *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose.

- f. setelah semua ditanam, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- g. dilihat masing-masing waktu dan pengenceran tentang pertumbuhan bakterinya
- h. Hitung nilai koefisien fenol

Menghitung nilai koefisien fenol menggunakan rumus berikut:

$$P_c = \frac{(Cat : Cbt) + (Cat' : Cbt')}{2}$$

Keterangan:

- P_c : Koefisien Fenol
- Cat : Pengenceran tertinggi desinfektan uji dengan waktu tercepat membunuh
- Cbt : Pengenceran tertinggi fenol dengan waktu tercepat membunuh
- Cat' : Pengenceran tertinggi desinfektan uji dengan waktu terlama membunuh
- Cbt' : Pengenceran tertinggi fenol dengan waktu terlama membunuh

3. Tahap Penyelesaian

Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan bantuan perangkat lunak komputer SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*). dilanjutkan penyusunan karya tulis ilmiah.

H. Uji Validitas dan Reliabilitas

Alat sudah dinyatakan valid, sehingga tidak diperlukan lagi uji validitas dan reliabilitas

I. Analisis Data

1. Uji Univariate

Tujuan uji ini adalah untuk melihat distribusi frekuensi dari variabel yang akan diteliti dalam bentuk frekuensi, presentase, mean, standar deviasi,

dll (Arikunto, 2010). Variabel yang dilihat distribusinya adalah nilai koefisien fenol yang disajikan dalam bentuk tabel yang terdapat nilai koefisien fenol pada zona resiko rendah, zona resiko sedang, zona resiko tinggi dan zona resiko sangat tinggi.

2. Uji Multivariant

Teknik analisa ini digunakan untuk menentukan hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Penelitian ini merupakan penelitian analisis kategorik berpasangan sehingga uji yang digunakan adalah uji non parametrik (Arikunto, 2010).

Uji yang digunakan untuk membandingkan nilai koefisien fenol di keempat zona risiko infeksi adalah *One Way Anova* menggunakan program SPSS 16. Hasil dikatakan signifikan apabila $p < 0,05$. Berdasarkan hal tersebut dapat diartikan bahwa jika $p < 0,05$ maka H_0 ditolak, sedangkan jika $p > 0,05$ maka H_0 diterima (Dahlan, 2010)