

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan *cross-sectional* untuk menguji efektivitas antiseptik menurut waktu kontak udara luar berdasarkan koefisien fenol di RSUD Yogyakarta. *Cross sectional* merupakan salah satu dari penelitian yang bersifat analitik observasional dimana pada penelitian cross sectional peneliti melakukan observasi atau pengumpulan data sekaligus pada suatu saat tertentu (*point time approach*). Artinya, tiap subyek hanya diobservasi satu kali saja dan pengukuran variable subyek dilakukan pada saat pemeriksaan tersebut (Notoatmodjo, 2010). Pada penelitian ini, data diperoleh dari nilai koefisien fenol yang dihitung dengan cara membagi hasil uji pengencer tertinggi zat antiseptik uji yang tidak ada pertumbuhan bakterinya pada waktu tercepat dan terlama dengan hasil uji pengenceran fenol yang tidak ada pertumbuhan bakterinya pada waktu tercepat dan terlama (Eka, 2015). Pengenceran dilakukan pada perbandingan 1:80, 1:100, dan 1:150, antiseptik uji dibandingkan air suling steril.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah sejumlah besar subyek dengan karakteristik tertentu (Sastroasmoro, 2011). Populasi dalam penelitian ini adalah semua antiseptik yang memiliki waktu kontak udara luar segera segel dibuka, 1 minggu setelah segel dibuka dan 1 bulan setelah segel dibuka di Rumah Sakit Umum daerah Kota Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel adalah subset (bagian) dari populasi yang dipilih dimana memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang dianggap dapat mewakili populasinya (Sastroasmoro, 2011). Sampel dalam penelitian ini adalah antiseptik yang memiliki waktu kontak udara luar segera segel dibuka, 1 minggu setelah segel dibuka dan 1 bulan setelah segel dibuka yang terletak pada ruangan zona resiko rendah infeksi di Rumah Sakit Umum Daerah Kota Yogyakarta dengan dua kali pengujian seperti pada tabel berikut :

Table 2. Pengambilan Sampel dan Lokasi

	Sampel	Jumlah	Lokasi Pengambilan
A	Antiseptik segera kontak udara luar	5 ml	Ruang Komite Pengendalian dan Pencegahan Infeksi
B	Antiseptik setelah 1 minggu kontak udara luar	5 ml	Ruang Komite Pengendalian dan Pencegahan Infeksi
C	Antiseptik setelah 1 bulan kontak udara luar	5 ml	Ruang Administrasi Pasien

Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *purposive sampling* atau *judgmental sampling*, yaitu pengambilan sampel yang didasarkan pada suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri berdasarkan ciri atau sifat-sifat sehingga sampel tersebut dapat mewakili populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Notoatmodjo, 2010).

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian ini dilakukan di RSUD Kota Yogyakarta untuk pengambilan sampel antiseptik menurut waktu kontak udara luar dan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk pengujian efektivitas antiseptik berdasarkan koefisien fenol.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2016

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah waktu kontak antiseptik dengan udara luar, yaitu :

- a. Waktu kontak udara luar segera setelah segel antiseptik dibuka
- b. Waktu kontak udara luar setelah 1 minggu segel antiseptik dibuka
- c. Waktu kontak udara luar setelah 1 bulan segel antiseptik dibuka

2. Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai koefisien fenol.

E. Definnisi Operasional

1. Antiseptik

Antiseptik adalah bahan kimia yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan jasad renik seperti bakteri, jamur, dan lain-lain pada jaringan hidup (Subroto dan Tjahajati, 2001). Pada penelitian ini antiseptik yang menjadi sampel penelitian adalah antiseptik merek “*onemed*” ukuran 500 ml yang digunakan di RSUD Kota Yogyakarta. Antiseptik ini yang mengandung alcohol 70 %, berbentuk gel dan mengandung emollient.

2. Efektivitas Antiseptik

Kemampuan antiseptik untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diukur menggunakan metode koefisien fenol.

3. Koefisien Fenol

Nilai koefisien fenol yang dihitung dengan cara membagi hasil uji pengencer tertinggi zat antiseptik uji yang tidak ada pertumbuhan bakterinya pada waktu tercepat dan terlama dengan hasil uji pengenceran fenol yang tidak ada pertumbuhan bakterinya pada waktu tercepat dan terlama (Eka, 2015). Nilai koefisien fenol digunakan untuk menentukan efektivitas antiseptik dalam penelitian ini. Hasil menunjukkan koefisien

fenol < 1 : antiseptik tersebut tidak efektif dibanding dengan fenol sedangkan koefisien fenol > 1 : antiseptik tersebut efektif dibanding fenol.

4. Waktu Kontak Udara Luar

- a. Waktu kontak udara luar segera setelah segel antiseptik dibuka : adalah waktu kontak antiseptik dengan luar segera setelah pembukaan segel.
- b. Waktu kontak udara luar setelah 1 minggu antiseptik dibuka : adalah lamanya waktu kontak antiseptik dengan udara luar selama 1 minggu setelah pembukaan segel.
- c. Waktu kontak udara luar setelah 1 bulan antiseptik dibuka: adalah lamanya waktu kontak antiseptik dengan udara luar selama 1 bulan setelah pembukaan segel.

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 penelitian 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 persiapan alat bahan penelitian dan sterilisasi alat.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel antiseptik bertempat di Rumah Sakit Umum Daerah Kota Yogyakarta. Sampel diambil dari ruangan dengan kategori sama yaitu ruangan zona infeksi rendah. Pengambilan sampel antiseptik dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Setiap sampel antiseptik diambil sebanyak 5ml dan dimasukkan kedalam kontainer steril. Masing-masing pengambilan sampel dilakukan pada waktu yang sama untuk mendapatkan sampel antiseptik segera dibuka segel, 1 minggu setelah segel dibuka dan 1 bulan setelah segel dibuka.

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 ditanam pada nutrient broth dengan interval waktu 5, 10, dan 15 menit. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° selama 24 jam dan dilihat pertumbuhan bakterinya (Pommerville, 2011). Adapun tahap uji koefisien fenol adalah sebagai berikut :

1) Pembuatan inokulum bakteri

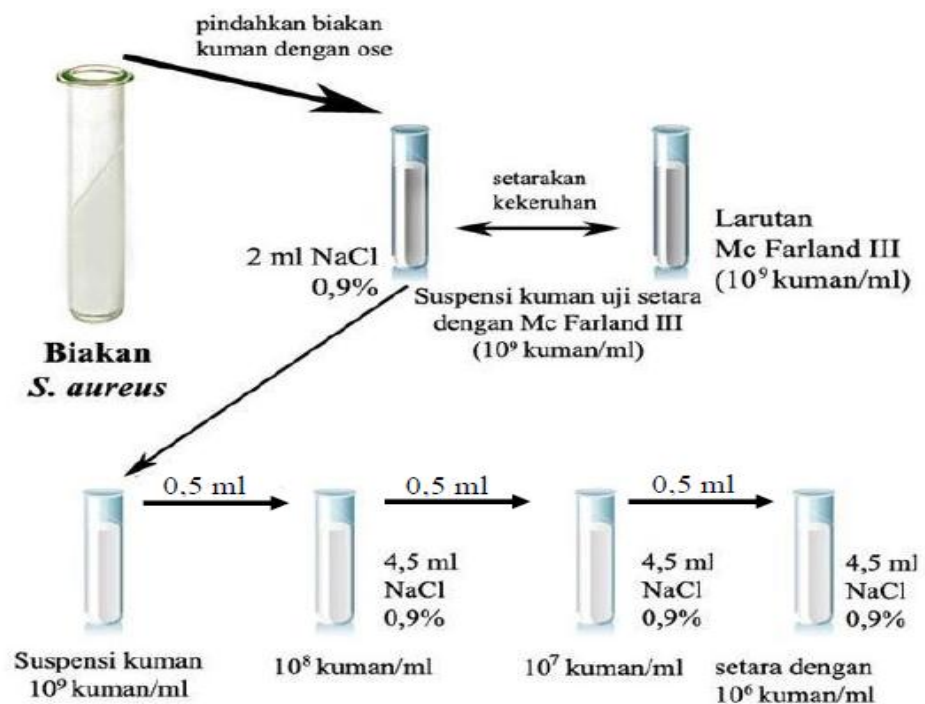
Bakteri *Staphylococcus aureus* sebelumnya telah ditanam pada agar nutrisi (*Nutrient Agar*) miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

Sedangkan tahap pengenceran bakteri uji adalah sebagai berikut:

- a) Siapkan tabung reaksi berisi 2 ml NaCl fisiologis 0,9%
- b) Pindahkan biakan *Staphylococcus 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 ml 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.



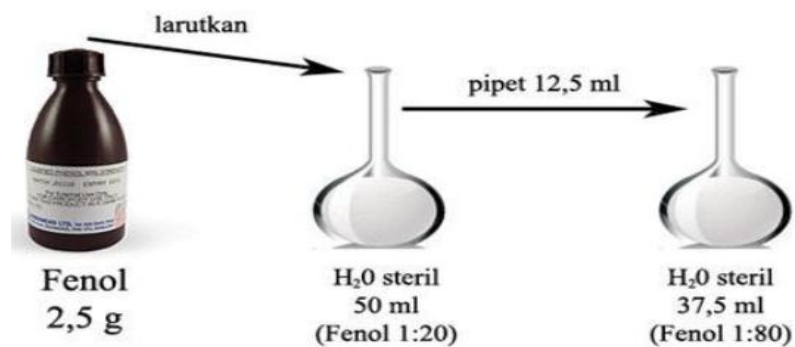
Gambar 2.Inokulum *Staphylococcus aureus*

2) Pembuatan Fenol Standar

Pembuatan fenol standar dengan konsentrasi sebagai berikut:

Membuat larutan persediaan baku fenol 5% dengan cara menimbang 2,5 g 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. Pengenceran 1:100 dilakukan dengan memipet 2 ml larutan fenol 5% ditambahkan dengan 8 ml air suling steril. Pengenceran 1:150 dilakukan dengan memipet 2 ml larutan fenol 5% dan ditambahkan 13 ml air suling steril. Masing-masing pengenceran diambil 5 ml untuk uji koefisien fenol.



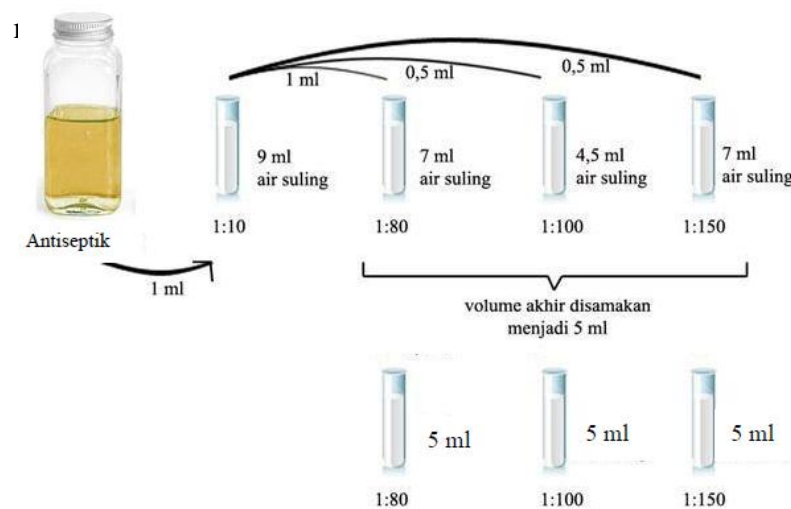
Gambar 3. Pembuatan Fenol Standar
Sumber : Elizabeth, 2013

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 pengenceran 1:10 ke dalam tabung berisi 7 ml air suling. Konsentrasi antiseptik pada tabung ini adalah 1:80
- d) Pindahkan 0,5 ml antiseptik pengenceran 1:10 ke dalam 4,5 ml akuades sehingga konsentrasi kini 1:100
- e) Pengenceran selanjutnya adalah dengan memindahkan 0,5 ml antiseptik pengenceran 1:10 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 untuk setiap sampel antiseptik. Masing-masing volume pengenceran disamakan



Gambar 4. Pengenceran Antiseptik
Sumber : Elizabeth, 2013

4) Pemeriksaan Koefisien Fenol

Pemeriksaan koefisien fenol dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

- a) 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.
- b) Petridish yang berisi *Nutrient Agar* (NA) masing-masing diberi kode pengenceran untuk fenol dan antiseptik sampel.
- c) Setelah 5 menit, setiap pengenceran ditanam *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose.
- d) Setelah 10 menit, setiap pengenceran ditanam *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose.
- e) 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 pada setiap antiseptik uji.
- h) Hitung nilai koefisien fenol

Menghitung nilai koefisien fenol menggunakan rumus berikut :

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

Keterangan :

Pc : Koefisien Fenol

Cat : Pengenceran antiseptik uji dengan waktu tercepat membunuh

Cbt : Pengenceran fenol dengan waktu tercepat membunuh

Cat' : Pengenceran antiseptik uji dengan waktu terlama membunuh

Cbt' : Pengenceran fenol dengan waktu terlama membunuh (Rahma, 2015)

H. Analisa Data

Sebelum melakukan analisa data terlebih dahulu dilihat distribusi data dengan uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel <50. Jika distribusinya Normal analisa data menggunakan *One-Way Anova*, bila distribusi tidak normal menggunakan *Kruskal –Wallis*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tes* atau *Mann Whitney test* untuk melihat tingkat perbandingan antar antiseptik uji. Nilai perbandingan yang bermakna dapat diketahui dengan melihat nilai *p*. Analisis data dilakukan secara bertahap meliputi analisis univariat dan bivariat. Analisis univariat untuk melihat distribusi frekuensi variabel bebas dan variabel tergantung. Analisis bivariat untuk melihat perbandingan antara variabel tergantung dengan variabel bebas. Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan bantuan perangkat lunak komputer SPSS versi 16.0.

I. Etika Penelitian

Penelitian ini berpedoman pada prinsip-prinsip etika penelitian yang telah melalui uji layak etik.