

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Ruang Lingkup Penelitian**

##### **3.1.1. Ruang Lingkup Ilmu**

Disiplin ilmu yang berhubungan dengan penelitian ini adalah Ilmu Mikrobiologi, Ilmu Farmakologi, dan Ilmu Kimia.

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1. Ruang Lingkup Tempat**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Unnes Semarang untuk pembuatan ekstrak air rebusan KKM dan Laboratorium Sentral RSND Undip Semarang untuk penelitian terhadap subjek.

##### **3.2.2. Ruang Lingkup Waktu**

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan April-Juni 2018.

#### **3.3. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah studi eksperimental dengan rancangan *pre and post test control group design*. Penelitian ini menggunakan 2 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol positif (*alcohol handrub* komersial) dan 1 kelompok perlakuan (air rebusan KKM 10% v/v), kemudian membandingkan keduanya. Akuades steril sebagai kontrol negatif, namun tidak disertakan dalam kelompok perlakuan.

Penelitian dilakukan dengan menghitung reduksi hitung kuman sebelum dan sesudah higiene tangan dengan produk yang diuji dan membandingkan dengan kontrol.

### **3.4. Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **3.4.1. Populasi Target**

Bakteri pada tangan subyek sehat pada umumnya.

#### **3.4.2. Populasi Terjangkau**

Bakteri di tangan Mahasiswa Kedokteran FK Undip.

#### **3.4.3. Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah mahasiswa Kedokteran FK Undip angkatan 2015 – 2017.

##### **3.4.3.1. Kriteria Inklusi**

1. Berkuku pendek.
2. Bersedia menjadi objek penelitian.
3. Tidak memiliki luka/penyakit kulit di tangan.

##### **3.4.3.2. Kriteria Eksklusi**

1. Sedang mengonsumsi antibiotik sebelum melakukan penelitian.
2. Alergi terhadap alkohol dan kayu manis.

#### **3.4.4. Cara Sampling**

Pengambilan sampel dilakukan dengan *purposive sampling* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

#### **3.4.5. Besar Sampel**

Besar sampel ditentukan dengan rumus **uji hipotesis terhadap rerata dua populasi tidak berpasangan** :

$$n1 = n2 = 2 \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta) SD}{x1 - x2} \right]^2$$

n1 = jumlah sampel kelompok perlakuan

n2 = jumlah sampel kelompok kontrol

Z $\alpha$  = ditetapkan dari pustaka besarnya 1,96

Z $\beta$  = ditetapkan dari pustaka besarnya 0,842

SD = simpangan baku, diambil dari literatur lain sebesar 14,5

x1-x2 = *clinical judgement* ditetapkan sebesar 15

dimasukkan dalam rumus :

$$n1 = n2 = 2 \left[ \frac{(1,96 + 0,842) 14,5}{15} \right]^2 = 14,6$$

Jumlah sampel untuk tiap kelompok ditetapkan 15 orang, maka jumlah sampel yang dibutuhkan seluruhnya berjumlah 30 orang.

### 3.5. Variabel Penelitian

#### 3.5.1. Variabel Bebas

Jenis antiseptik :

- a. Air rebusan KKM 10% v/v.
- b. *Alcohol handrub* komersial sebagai kontrol positif.

#### 3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah reduksi hitung kuman dalam bentuk log dan persentase setelah melakukan higiene tangan dengan air rebusan KKM 10% v/v.

### 3.5.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah reduksi hitung kuman dalam bentuk log dan persentase setelah melakukan higiene tangan dengan produk *alcohol handrub* komersial yang dipakai sebagai kontrol positif.

## 3.6. Definisi Operasional

**Tabel 7.** Definisi Operasional.

No.	Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi operasional	Skala	Nilai
1.	Variabel Bebas	Jenis antiseptik	Air rebusan KKM 10% v/v adalah 30 ml ekstrak KKM ditambah aquades dalam 300 ml (volume akhir).	Nominal	1. Air rebusan KKM 10% v/v
			<i>Alcohol handrub</i> komersial. Konsentrasi disesuaikan dengan label kemasan, sekaligus sebagai kontrol positif.	Nominal	2. <i>Alcohol handrub</i> komersial
2.	Terikat	Reduksi hitung kuman setelah melakukan higiene tangan	Reduksi hitung kuman dalam bentuk persentase setelah melakukan higiene tangan.	Rasio	Persentase reduksi hitung kuman
3	Terikat	Reduksi hitung kuman setelah melakukan higiene tangan	Reduksi hitung kuman dalam bentuk log setelah melakukan higiene tangan.	Rasio	Log reduksi hitung kuman

### **3.7. Cara Pengumpulan Data**

#### **3.7.1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, tabung reaksi, panci, pisau, spiritus, korek api, mikropipet, *vortex*, tabung erlenmeyer, *petri dish*, gelas ukur, *beaker glass*, *swab* steril NaCl 0,9%, dan botol kaca.

#### **3.7.2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kayu manis, air, *alcohol handrub* komersial, media agar darah domba 5%, dan *blue tip*.

#### **3.7.3. Jenis Data**

Data yang digunakan adalah data primer hasil penelitian yaitu hitung kuman yang tumbuh di petri agar darah hasil sebelum higiene tangan dan sesudah higiene tangan.

#### **3.7.4. Cara Kerja**

##### **a. Pembuatan air rebusan kayu manis**

Pembuatan ekstrak air rebusan kulit kayu manis dengan metode infundasi. Kulit kayu manis dibersihkan, kemudian dipotong, ditimbang hingga tercapai berat 100 gram. Kemudian diletakkan di dalam *beaker glass* yang diisi air 1000 ml yang ditutup rapat, kemudian dipanaskan di dalam panci yang berisi air juga selama 15 menit dengan suhu 90°C. Saring selagi panas melalui kain flanel.<sup>53</sup> Larutan kemudian disterilkan dengan menggunakan filter bakteri 0,5 µm, kemudian ditampung dalam botol kaca steril dan disimpan dalam suhu -20°C.

##### **b. Pengujian terhadap senyawa yang dikandung**

**Tabel 8.** Uji Fitokimia untuk Membuktikan Senyawa pada Kulit Kayu Manis.<sup>41</sup>

Flavonoid	Keberadaan flavonoid dibuktikan dengan menambahkan Mg dan HCl, warna coklat yang terbentuk menunjukkan sampel mengandung flavonoid.
Tanin	Diuji dengan menambahkan gelatin 10%, jika terbentuk endapan putih maka sampel positif mengandung tanin.

Uji kemurnian sinamaldehyda dilakukan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan pelarut yang sesuai dengan perbandingan tertentu dan menghasilkan satu noda yang menunjukkan bahwa senyawa hasil pemisahan relatif murni. Senyawa hasil pemisahan tersebut dikarakterisasi menggunakan spektrometer IR dan GC-MS.

c. Hasil pengujian terhadap senyawa yang dikandung

Setelah dilakukan uji fitokimia, diperoleh hasil bahwa ekstrak air rebusan KKM mengandung senyawa kimia berupa flavonoid dan tanin.<sup>41</sup>

**Tabel 9.** Hasil Uji Fitokimia pada Kulit Kayu Manis.<sup>41</sup>

Flavonoid	Uji flavonoid menggunakan Mg-HCl atau magnesium dengan asam klorida sehingga terbentuk warna coklat.
Tanin	Terbentuknya endapan putih setelah penambahan gelatin 10% membuktikan bahwa sampel mengandung tanin.

Hasil uji kromatografi didapatkan sinamaldehyda dari minyak kulit kayu manis dapat dipisahkan dengan penambahan pereaksi natrium bisulfit. Persentase sinamaldehyda sebesar 28,14 % yang memiliki bentuk fisik berupa cairan jernih berwarna kuning kecoklatan, berbau minyak kayu manis dengan titik didih 246° C dan titik lebur -7°C.

d. Teknik higiene tangan

Sebelum prosedur uji dilakukan subjek dilatih untuk melakukan langkah-langkah melakukan hygiene tangan dengan baik dan benar, yaitu mengikuti panduan WHO. Setelah itu dilihat bagaimana tekniknya apakah sudah benar atau tidak.<sup>16</sup>

e. Prosedur hygiene tangan

Subjek dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu 1 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol positif. Kelompok perlakuan menggunakan air rebusan KKM 10% v/v. Kelompok kontrol positif melakukan hygiene tangan menggunakan produk *alcohol handrub* komersial. Langkah hygiene tangan mengikuti rekomendasi dari WHO dengan lama kontak 60 detik.

f. Melakukan swab pada telapak tangan dominan

Telapak tangan dominan subjek diusapkan secara merata dengan *cotton swab* steril baik sebelum dan sesudah melakukan hygiene tangan.<sup>49</sup> Swab telapak tangan dominan dilakukan pada area seluas 16 cm<sup>2</sup>.

g. Hitung kuman

Hitung kuman menggunakan teknik *spread plate*. Teknik ini mudah dan langsung terlihat hasilnya. *Cotton swab* dikocok pada tabung yang sudah diberi larutan fisiologis NaCl 0,9% sebanyak 2 ml kemudian diambil 1 ml, dituang dalam tabung dengan pengenceran 10<sup>-1</sup> dan selanjutnya dituang lagi 1 ml ke dalam tabung dengan pengenceran 10<sup>-2</sup>, selanjutnya diambil 100 mikron dengan mikropipet dari ketiga tabung tersebut kemudian disebar secara merata di atas permukaan agar dengan *spreader* berbentuk-L yang steril.

*Spreader* biasanya disterilisasi dengan mencelupkan ke dalam alkohol dan dipanaskan. Selanjutnya petri agar darah tersebut diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C selama

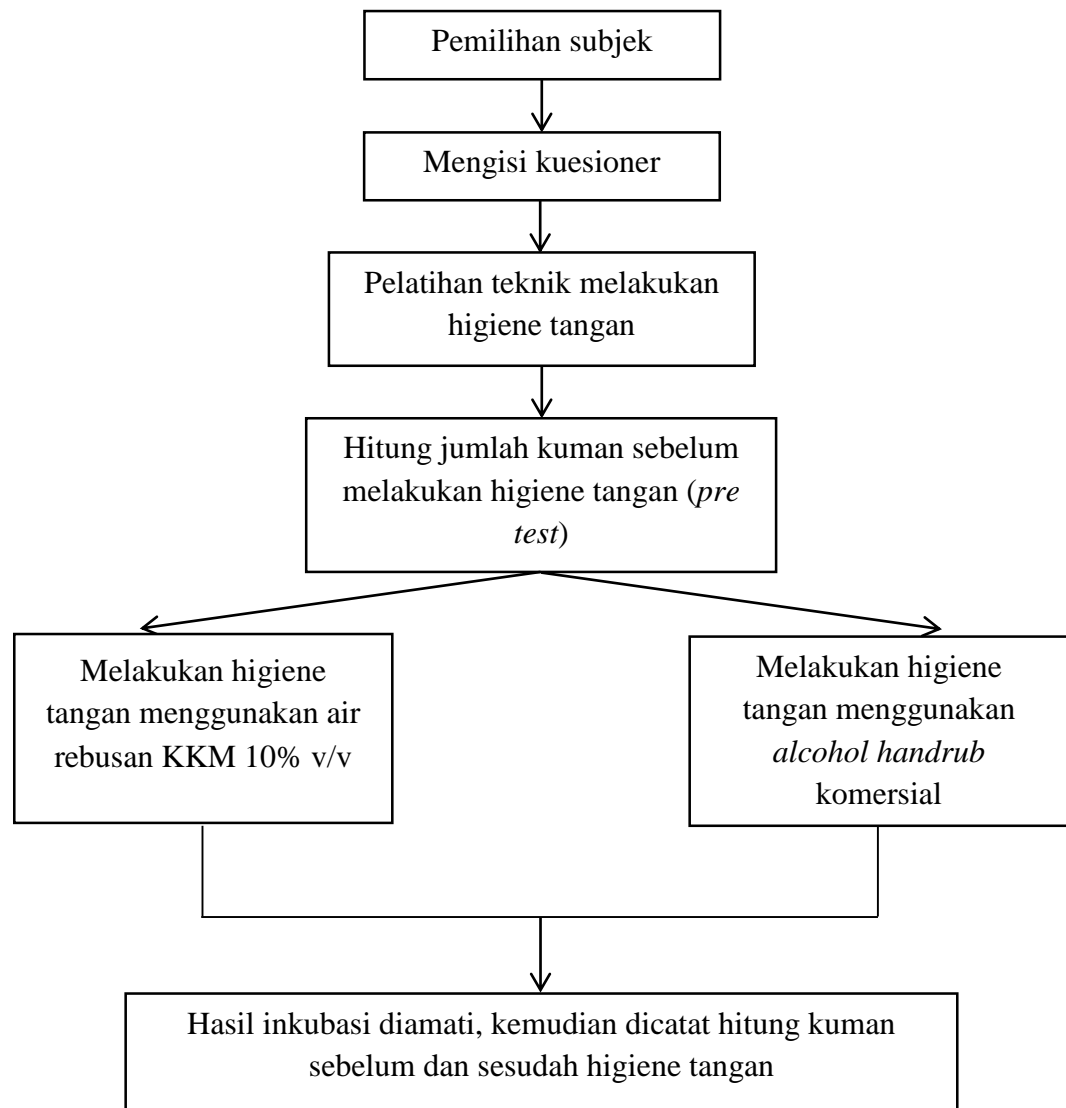
24 jam. Hasil inkubasi diamati dan koloni bakteri yang tumbuh dihitung dan dicatat.<sup>50</sup>

h. Melakukan higiene tangan setelah penelitian selesai

Subjek melakukan higiene tangan menggunakan sabun cair dan air untuk menghindari kemungkinan bakteri yang masih tersisa di permukaan tangan.



### 3.8. Alur Penelitian



**Gambar 14.** Alur Penelitian.

### 3.9. Analisis Data

Data yang dihimpun kemudian akan diedit, dikoding, ditabulasi dan dilakukan entering data. Sebelum dilakukan uji hipotesis dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro Wilk* untuk mengetahui distribusi data. Apabila data berdistribusi normal maka persentase dan log reduksi hitung kuman diuji

dengan uji *Independent t-Test*, sementara menilai hitung kuman sebelum dan sesudah higiene tangan menggunakan *Paired t-Test*. Apabila data tidak berdistribusi normal maka persentase dan log reduksi dilanjutkan dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*, sementara hitung kuman sebelum dan sesudah higiene tangan dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*. Data diolah menggunakan SPSS Statistik Edisi 21 di komputer.

### **3.10. Etika Penelitian**

*Ethical clearance* diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Undip/RSUP Dr. Kariadi, Semarang. Peneliti kemudian mengajukan izin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biologi FMIPA Unnes, Semarang, dan Laboratorium Mikrobiologi FK Undip, Semarang. Sebelum penelitian dilakukan, subjek akan diberikan *Informed Consent* penjelasan mengenai maksud, tujuan, manfaat, protokol penelitian, dan efek samping yang mungkin terjadi. Dalam penelitian ini hak menjadi milik subjek sepenuhnya untuk memilih ikut serta atau tidak dalam penelitian ini, tanpa konsekuensi apapun. Seluruh biaya penelitian ditanggung oleh peneliti.

### 3.11. Jadwal Penelitian

**Tabel 10.** Jadwal Penelitian.

No	Kegiatan	Februari				Maret				April				Mei				Juni				Juli			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Proposal	■																							
2.	EC									■															
3.	Persiapan alat dan bahan, mencari sampel									■															
4.	Kegiatan penelitian													■											
5.	Pengukuran hasil																	■							
6.	Analisis hasil																	■							
7.	Pembuatan laporan																	■							
8.	Sidang hasil																	■							