

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan studi eksperimental menggunakan *post-test only control group design*.

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis*. Sampel adalah *Staphylococcus epidermidis* yang digunakan untuk mengkontaminasi tangan subjek. Dalam penelitian ini, 9 sukarelawan sehat yang menjadi subjek adalah mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang tidak memiliki riwayat iritasi terhadap bahan penelitian (sabun bertriklokarban, sabun tanpa triklokarban, alkohol, klorheksidin glukonat), tidak memiliki luka atau penyakit kulit pada tangan, dan secara sukarela mengikuti penelitian ini (sudah mendapat penjelasan dari peneliti dan menandatangani lembar *informed consent*). Subjek dipilih dengan metode *simple random sampling*.

Terdapat tiga kelompok perlakuan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Kelompok probandus yang mencuci tangan dengan sabun bertriklokarban.
2. Kelompok probandus yang mencuci tangan dengan sabun tanpa triklokarban.
3. Kelompok kontrol yang mencuci tangan dengan air mengalir.

Jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer sebagai berikut.

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

t = banyak perlakuan

r = jumlah replikasi

Dengan menggunakan rumus tersebut, maka jumlah replikasi pada satu kelompok perlakuan dalam penelitian ini dapat dihitung sebagai berikut.

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

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$2(r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 7,5$$

$$r \geq 8,5$$

Jumlah replikasi untuk satu kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 9 kali.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Oktober-Desember 2015.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis sabun untuk mencuci tangan (sabun dengan triklokarban dan sabun tanpa triklokarban).

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

4.4.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah langkah-langkah mencuci tangan, durasi mencuci tangan, *conditioning wash*, cara mengeringkan tangan, dan teknik inkubasi.

4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

1. sabun cair antiseptik dengan bahan aktif triklokarban: Lifebuoy Antibacterial Handwash
2. sabun cair tanpa triklokarban: Indomaret Hand Soap
3. kultur bakteri *Staphylococcus epidermidis*
4. suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 colony forming unit (CFU)/mL)
5. normal saline (untuk membuat suspensi dan membasahi *cotton swab*)
6. alkohol 70%
7. *nutrient agar*
8. klorheksidin glukonat

4.5.2 Alat Penelitian

1. spektrofotometer
2. pipet
3. sarung tangan untuk peneliti
4. *sterile cotton swab*
5. spuit steril (alat untuk mengambil normal saline dan membasahi *cotton swab*)
6. cawan Petri

7. inkubator mikroba
8. colony counter

4.6 Definisi Operasional

Subjek adalah mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang tidak memiliki riwayat iritasi terhadap bahan penelitian (sabun bertriklokarban, sabun tanpa triklokarban, alkohol 70%, klorheksidin glukonat), tidak memiliki luka atau penyakit kulit pada tangan, dan secara sukarela mengikuti penelitian ini (sudah mendapat penjelasan dari peneliti dan menandatangani lembar *informed consent*).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Suspensi *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis dikultur pada *nutrient broth* pada 37^o C selama 24 jam. Suspensi dibuat dengan melarutkan bakteri dari kultur dalam *normal saline* 0,9%. Kemudian dilakukan pemeriksaan spektrofotometri dengan panjang gelombang panjang 625 nm untuk mengetahui nilai absorbansi dari suspensi. Suspensi bakteri uji dengan konsentrasi bakteri 1x 10⁸ CFU/mL setara dengan *Optical Density (OD)* 0.1 standar McFarland, kemudian dilakukan perhitungan dengan rumus:

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan :

N1 : Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V1 : volume bakteri dengan pengenceran

N2 : (0.1 = 10⁸ CFU/ml)

V2 : volume bakteri (1 ml)

4.7.2 Conditioning Wash

Conditioning wash dilakukan dengan mencuci tangan dengan sabun tanpa triklokarban selama 30 detik dengan menggunakan 6 langkah cuci tangan dari WHO. Sabun dibilas dengan air mengalir dan tangan dikeringkan dengan handuk. Setelah tangan kering, subyek mencuci tangan kembali menggunakan alkohol 70% dengan 6 langkah cuci tangan WHO selama 30 detik untuk mematikan bakteri-bakteri kontaminan.

4.7.3 Kontaminasi Tangan dengan *Staphylococcus epidermidis*

Kontaminasi tangan dilakukan dengan menggunakan suspensi yang mengandung 1×10^8 colony forming unit (CFU)/mL *Staphylococcus epidermidis*. 1 mL suspensi bakteri ini dituangkan pada tangan peserta uji, kemudian suspensi ini diusapkan ke seluruh permukaan tangan. Setelah itu, tangan dikeringanginkan.

4.7.4 Perlakuan pada Tangan

Subjek mencuci tangan dengan cara standar menggunakan 1 mL sabun bertriklokarban, sabun tanpa triklokarban, atau air mengalir selama 30 detik sesuai kelompok perlakuan dengan menggunakan 6 langkah cuci tangan dari WHO. Kelompok yang menggunakan sabun membilas tangan dengan air mengalir selama 30 detik. Tangan dikeringanginkan setelah dicuci.

4.7.5 Teknik *Sampling* Bakteri dari Tangan

Teknik *sampling* bakteri dilakukan dalam keadaan tangan kering. *Sterile cotton swab* yang sudah dibasahi dengan larutan NaCl 0,9% disapukan ke bagian palmar telapak tangan peserta uji (Radji *et al.*, 2007). Ujung *cotton swab* digulirkan secara zigzag di atas telapak tangan supaya bakteri menempel secara

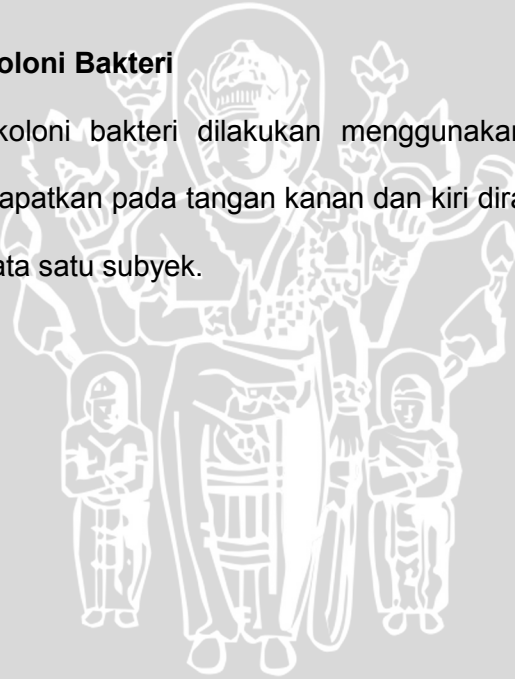
merata pada *swab*. Satu permukaan palmar diambil sampelnya dengan menggunakan satu *swab*. Untuk satu peserta uji, dilakukan dua kali *swabbing*, yaitu *swabbing* tangan kanan dan tangan kiri. Setelah prosedur *sampling* selesai, subjek mencuci tangan dengan klorheksidin glukonat.

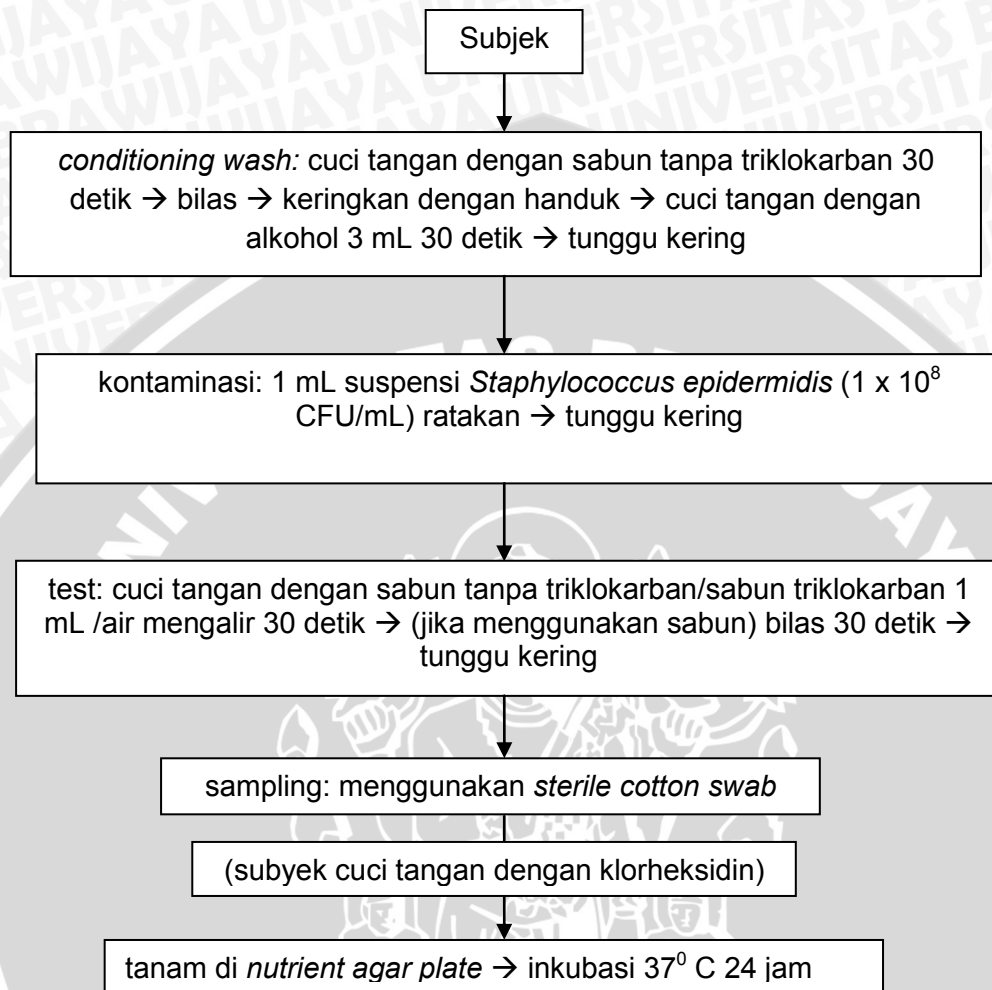
4.7.6 Inokulasi dan Inkubasi

Sampel dari *cotton swab* ditanam langsung pada *nutrient agar* padat. Cawan petri diberi label subjek dan kode tangan kanan atau kiri, kemudian diinkubasi pada 37⁰ C selama 24 jam.

4.7.7 Penghitungan Koloni Bakteri

Penghitungan koloni bakteri dilakukan menggunakan *colony counter*. Jumlah koloni yang didapatkan pada tangan kanan dan kiri dirata-rata, kemudian dimasukkan sebagai data satu subyek.





Gambar 4.1 Prosedur Penelitian

4.8 Pengolahan Data

Analisa statistik dalam penelitian ini menggunakan *one way analysis of variance* (ANOVA). Nilai perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$.