

III. METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik untuk menguji efektivitas pada antiseptik di Unit Perinatologi Rumah Sakit Umum Abdul Moeloek.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilaksanakan di unit Perinatologi Rumah Sakit Umum Abdul Moeloek, dan pengujian efektivitas antiseptik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Bandar Lampung, pada bulan Desember 2012-Januari 2013.

C. Bahan dan Alat Penelitian

1. Sampel Penelitian

Antiseptik yang digunakan pada Unit Perinatologi Rumah Sakit Umum Abdul Moeloek pada bulan Desember 2012-Januari 2013.

2. Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini adalah inkubator, autoklaf, rak dan tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, cawan petri, kapas, bunsen, ose, serta peralatan lainnya yang dipergunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

D. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- a. alkohol yang sudah dituang dalam wadah berisi kapas
- b. alkohol dalam botol yang digunakan untuk mengisi alkohol pada wadah kapas
- c. alkohol dalam jerigen
- d. antiseptik bermerk "X" yang digunakan untuk membersihkan tangan para medis dan petugas medis
- e. povidon iodine.

E. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diambil sebanyak satu kali dalam waktu yang bersamaan. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam tabung steril dan dibawa ke laboratorium mikrobiologi untuk diuji keefektifitasannya.

2. 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 (pommerville, 2011).

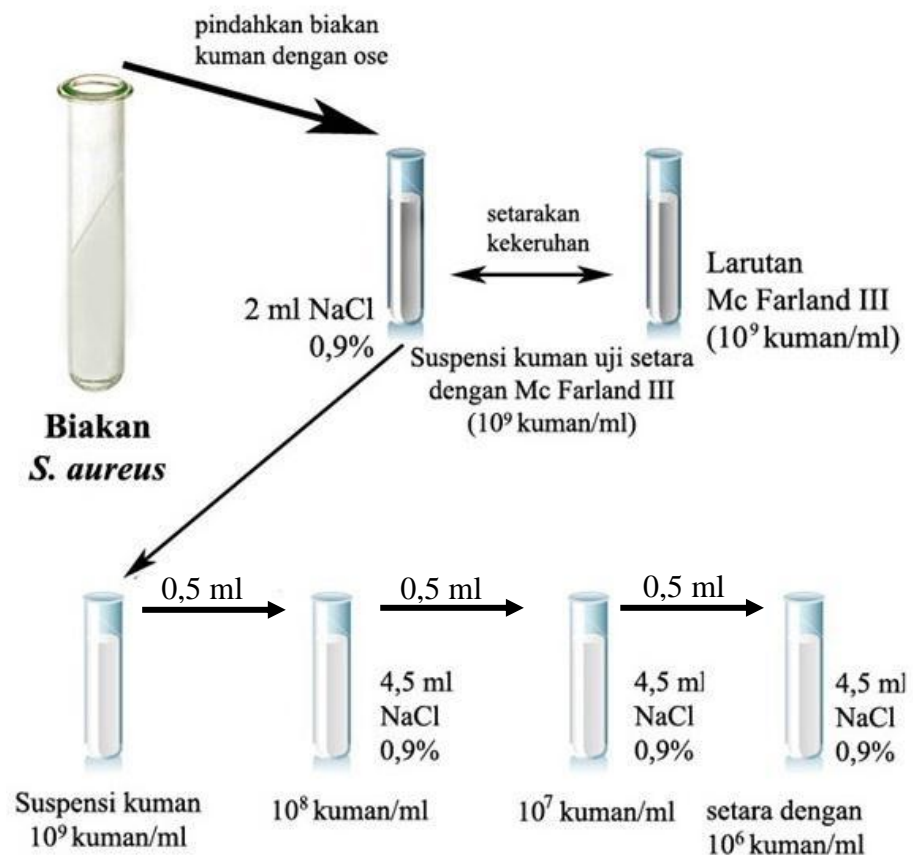
2.1. Pembuatan inokulum bakteri

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 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.

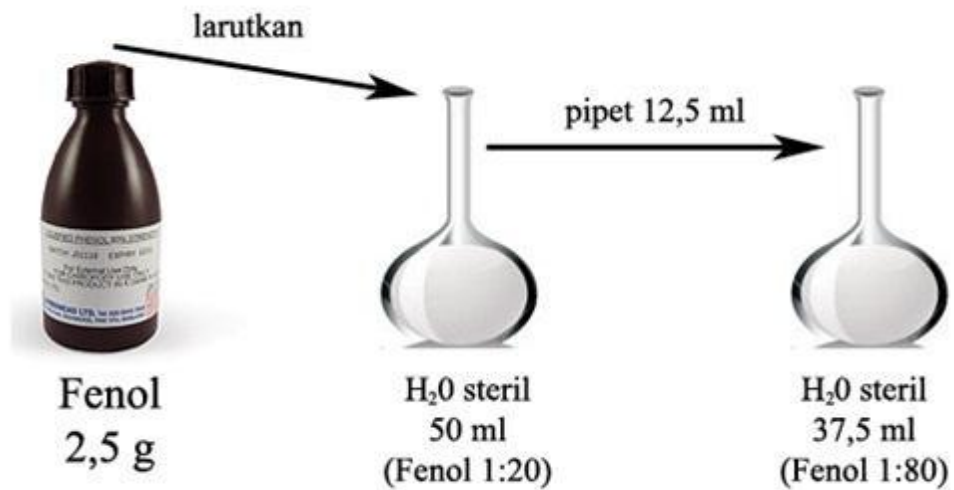


Gambar 5. Inokulum *S. Aureus*

2.2. 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.



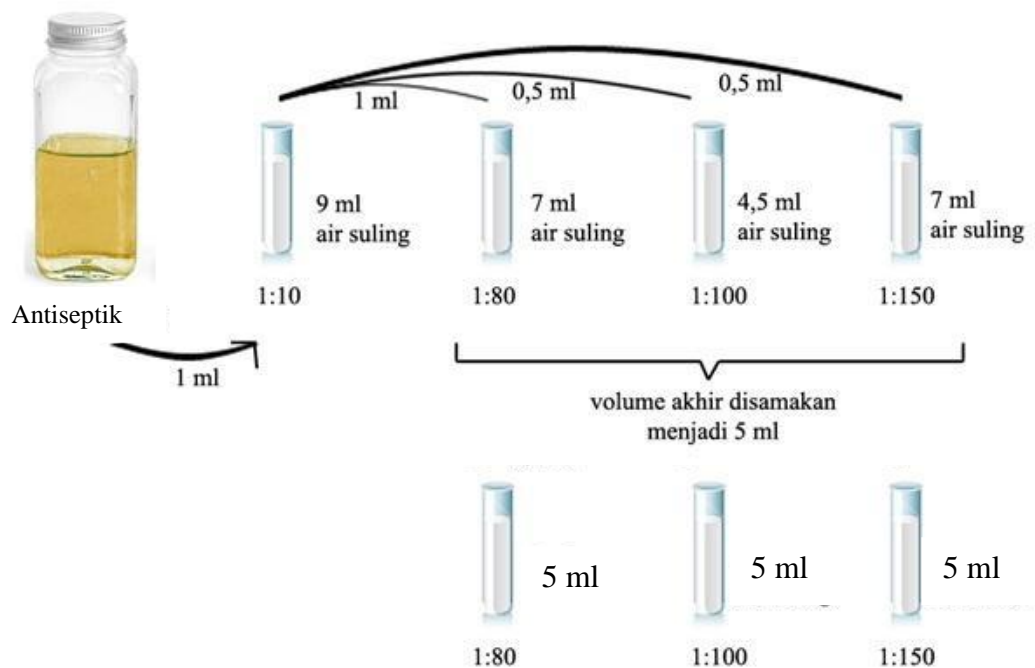
Gambar 6. Pembuatan fenol standar

2.3. 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 7. Pengenceran Antiseptik

2.2. 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 alkohol (dengan perhitungan waktu agar tidak lebih dari 5 menit) dengan volume 0,1 ml
- b. petridish yang berisi *Nutrient Agar* (NA) dan tabung yang berisi *Nutrient Broth* (NB) masing-masing diberi kode pengenceran untuk fenol dan alkohol
- c. setelah 5 menit, setiap pengenceran ditanam pada *Nutrient Broth* (NB) cair dan pada *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose
- d. setelah 10 menit, setiap pengenceran ditanam pada *Nutrient Broth* (NB) cair dan pada *Nutrient Agar* (NA) padat dengan digoreskan menggunakan ose
- e. setelah 15 menit, setiap pengenceran ditanam *Nutrient Broth* (NB) cair dan 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

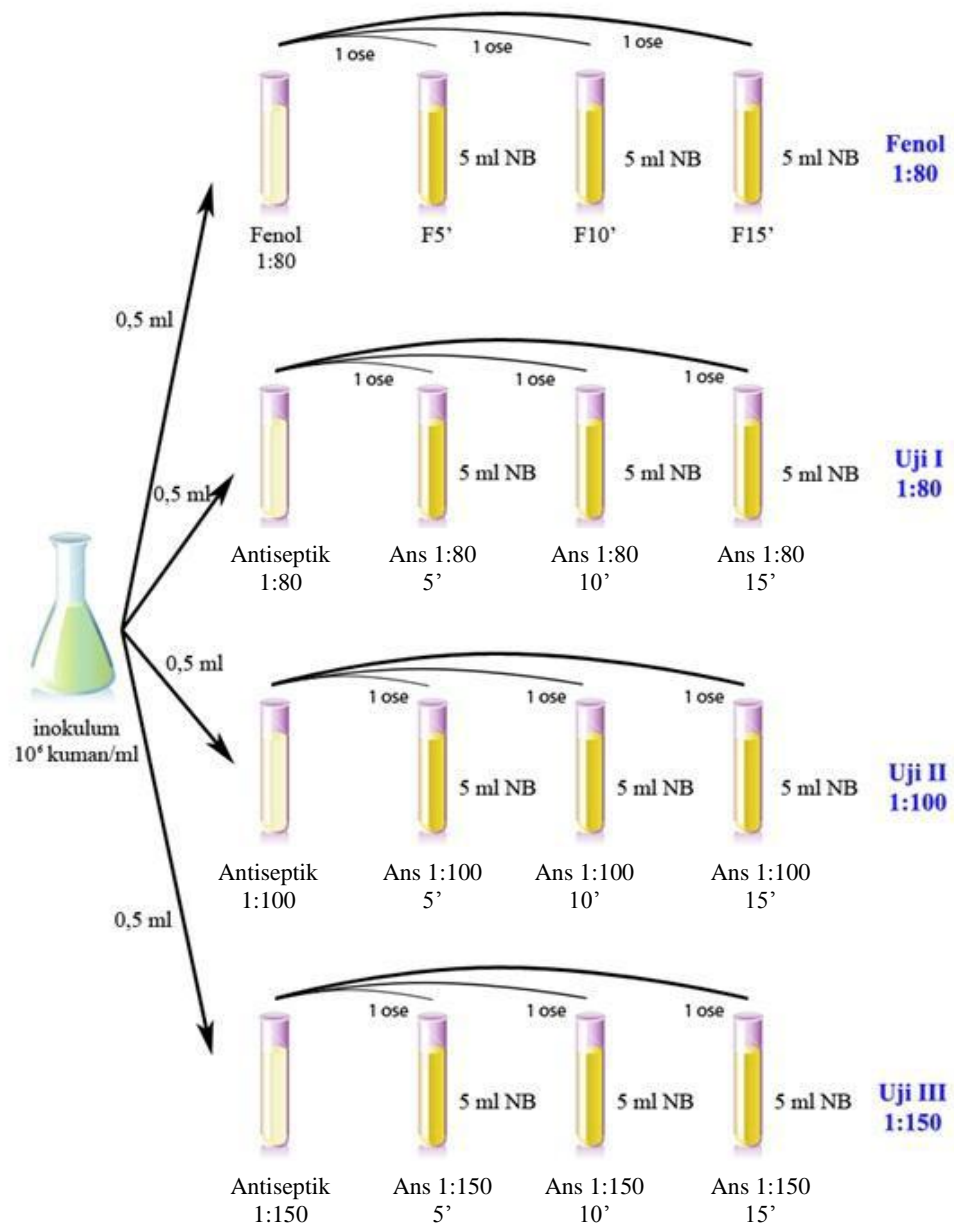
h. nilai koefisien fenol dihitung dengan menggunakan rumus :

Pengenceran tertinggi antiseptik yang mematikan pada menit ke-10 tetapi tidak mematikan pada menit ke-5

Pengenceran tertinggi fenol yang mematikan pada menit ke-10 tetapi tidak mematikan pada menit ke-5

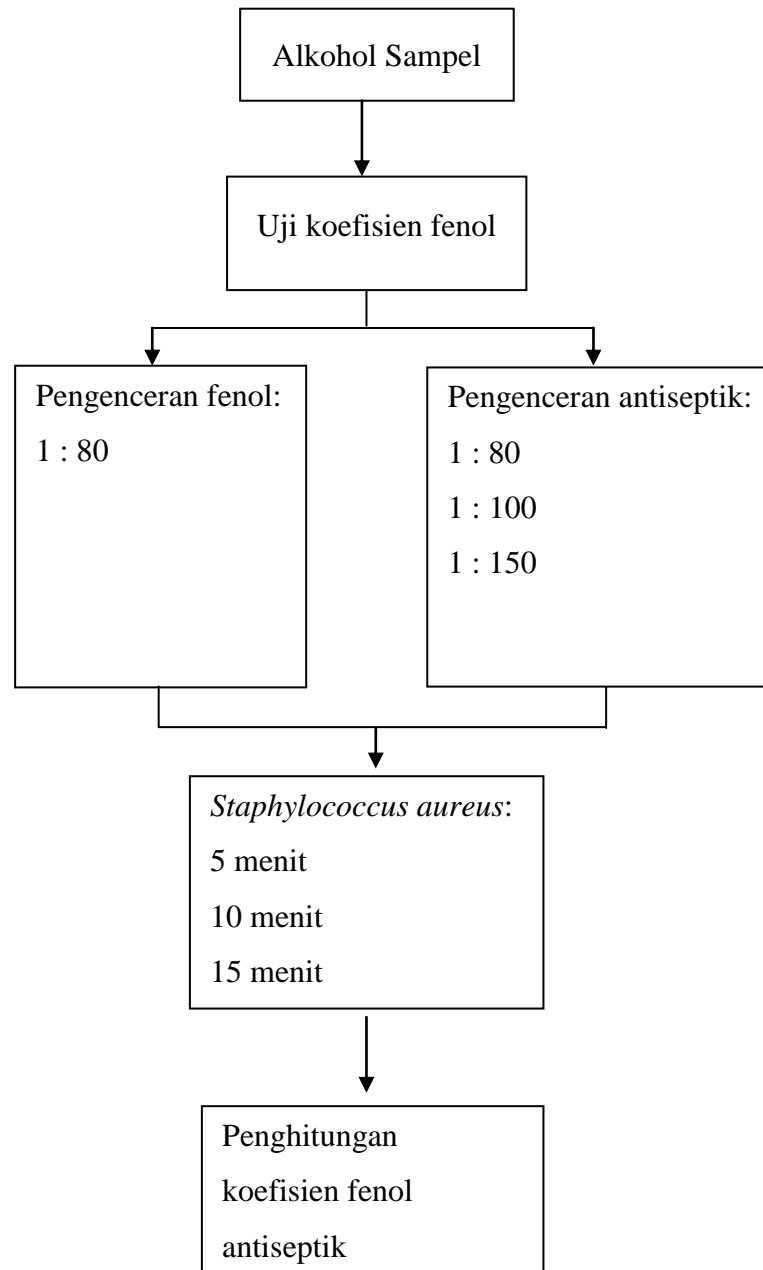
Koefisien fenol < 1 : antiseptik tersebut kurang efektif daya bakterisidalnya dibanding dengan fenol.

Koefisien fenol > 1 : antiseptik tersebut daya bakterisidalnya lebih ampuh dibanding fenol.



Gambar 8. Pemeriksaan Koefisien Fenol

F. Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

G. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional.

Variabel	Definisi	Skala
Efektivitas antiseptik	<p>Kemampuan antiseptik untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme menggunakan metode koefisien fenol.</p> <p>Perbandingan ukuran kemampuan suatu bahan antimikrobiaI dibandingkan dengan fenol.</p> <p>Koefisien fenol yang kurang dari 1 menunjukkan bahwa bahan antimikrobiaI tersebut kurang efektif dibandingkan fenol.</p> <p>Koefisien fenol lebih dari 1 artinya bahan mikrobiaI tersebut lebih efektif dibandingkan fenol.</p>	Katagorik