

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen, metode eksperimen dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan. Desain yang digunakan dalam metode ini adalah *Quasi Eksperimental Design* (Eksperimen semu). Eksperimen semu merupakan penelitian yang mendekati eksperimen sungguhan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji secara langsung pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain dan menguji hipotesis hubungan sebab-akibat. Desain eksperimen semu mempunyai kelompok eksperimen dan kelompok kontrol (Sugiyono, 2013).

Penelitian ini melibatkan dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Kelompok kontrol merupakan kelompok yang tidak diberikan perlakuan sabun cair dengan tambahan ekstrak daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*) dan hanya menggunakan air untuk mencuci tangan. Kelompok eksperimen yaitu kelompok yang diberikan perlakuan sabun cair dengan tambahan ekstrak daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*) pada saat mencuci tangan. Konsentrasi yang digunakan yaitu 75%, 80%, dan 85%.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Tanjung Karang Jurusan Sanitasi Lingkungan dan waktu penelitian dapat dilihat pada berikut.

Tabel 3.1 Waktu penelitian

No	Kegiatan	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr
1	Pengajuan judul proposal						
2	Penyusunan Proposal Penelitian						
3	Persiapan Alat dan bahan						
4	Penelitian						
5	Analisis Data						
6	Penyusunan Hasil Penelitian						

C. Subjek Penelitian

1. Subjek pada penelitian ini adalah pemanfaatan minyak goreng bekas (minyak jelantah) dan daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*). Minyak jelantah yang digunakan untuk penelitian ini didapatkan dari sisa kegiatan rumah tangga peneliti sedangkan daun cengkih diperoleh dari kebun milik peneliti di desa Sukabumi Kecamatan Kotaagung Timur Tanggamus. Minyak jelantah yang digunakan untuk penelitian ini adalah minyak jelantah hasil pemurnian sedangkan untuk daun yang akan digunakan yaitu daun cengkih yang masih sehat dan segar. Daun cengkih tersebut akan di diolah menjadi ekstrak.
2. Sampel dalam penelitian ini berjumlah 4 orang dimana 1 orang sebagai kontrol. Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan Teknik

pengambilan sampel secara *purposive Sampling* dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

Adapun kriteria – kriteria yang digunakan untuk pengambilan sampel *purposive Sampling* adalah sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah kriteria atau ciri – ciri yang perlu dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil sebagai sampel (Notoatmodjo, 2010).

- 1) Bersedia dijadikan sampel
- 2) Sampel adalah relawan Wanita berusia 18 – 25 tahun
- 3) Relawan yang sudah melakukan aktivitas
- 4) Relawan tidak memiliki Riwayat alergi terhadap sabun dan deterjen
- 5) Hadir pada saat penelitian

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eklusi adalah kriteria atau ciri -ciri anggota populasi yang tidak dapat diambil sebagai sampel (Notoatmodjo, 2010).

- 1) Tidak bersedia menjadi sampel
- 2) Ada riwayat alergi terhadap sabun dan deterjen
- 3) Sampel sedang mengalami luka terbuka di telapak tanganya
- 4) Tidak hadir pada saat penelitian

3. Replika untuk perlakuan

Sampel adalah bagian atau jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 orang sukarelawan Wanita baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Jumlah seluruh sampel yang digunakan yaitu dengan mengalikan besar sampel dikali variasi dan jumlah replikasi.

Jumlah pengulangan dapat di hitung dengan menggunakan rumus Federer (Maharani, 2016) sebagai berikut:

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

Keterangan:

- a. t : jumlah perlakuan
- b. r : jumlah replikasi (pengulangan)
- c. 15: derajat kebebasan umum

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

$$(4 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$3 r \geq 15$$

$$3 r \geq 15 + 3$$

$$3 r \geq 18$$

$$r \geq 18 / 3$$

$$r \geq 6$$

Maka dari hasil perhitungan rumus, didapatkan bahwa jumlah replikasi penelitian dilakukan sebanyak 6 kali sehingga jumlah perlakuan terhadap sampel sebanyak 24 kali.

a. Tabel Pengamatan

Tabel 3.2 Format pengamatan

Perlakuan	Jumlah sampel	Pengulangan	Jumlah kuman sebelum perlakuan	Jumlah kuman setelah perlakuan	Pengelupasan kulit
Kontrol	4	1	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		2	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		3	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		4	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		5	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		6	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
Perlakuan 2	4	1	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		2	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		3	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		4	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		5	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		6	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
Perlakuan 3	4	1	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		2	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		3	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		4	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		5	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		6	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
Perlakuan 3	4	1	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		2	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		3	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		4	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		5	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak
		6	...koloni/cm ²	...koloni/cm ²	Ya/Tidak

b. Hasil penurunan jumlah kuman dan pengelupasan kulit tangan

Tabel 3.3 Pengujian Penelitian

No	Konsentrasi sabun cair minyak jelantah dengan tambahan ekstrak daun cengkih (<i>Zyzygium aromaticum</i>)	Angka lempeng total bakteri		Penurunan jumlah bakteri (\sum sebelum - \sum sesudah)
		Sebelum cuci tangan	Sesudah cuci tangan	
1.	75%koloni/cm ²koloni/cm ²koloni/cm ²
2.	80%koloni/cm ²koloni/cm ²koloni/cm ²
3.	85%koloni/cm ²koloni/cm ²koloni/cm ²
Rata – rata		Rerata	Rerata	Rerata

D. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel yang nantinya akan digunakan dalam penelitian.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas (Independent) dalam penelitian ini adalah sabun cair minyak jelantah dengan tambahan ekstrak daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*) dengan konsentrasi 75%, 80% dan 85%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat (dependen) pada penelitian ini adalah penurunan jumlah angka kuman pada telapak tangan dan tidak menimbulkan pengelupasan kulit setelah diberikan perlakuan cuci tangan menggunakan sabun cair antiseptik minyak jelantah dengan tambahan ekstrak daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*).

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu (terkendali) dapat dikendalikan dengan cara sebagai berikut :

- a. Air, air yang digunakan untuk perlakuan dapat dikendalikan dengan cara melakukan penelitian menggunakan jenis dan PH air yang sama

E. Definisi Operasional

Tabel 3.4 Definisi operasional

No	Variabel Penelitian	Defisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Sabun cair minyak jelantah dengan tambahan ekstrak daun cengkih (<i>Zyzygium aromaticum</i>)	Jumlah konsentrasi Sabun cair minyak jelantah dengan tambahan ekstrak daun cengkih (<i>Zyzygium aromaticum</i>) yang digunakan	Volumetri	Pengukuran	75% 80% 85%	Interval
2	Jumlah kuman pada telapak tangan	Penurunan angka kuman setelah perlakuan cuci tangan menggunakan sabun cair ekstrak daun cengkih (<i>Zyzygium aromaticum</i>) pada telapak tangan.	Colony counter	Pengukurankoloni/cm ²	Rasio
3	Pengelupasan pada kulit telapak tangan	Adanya tanda kulit ari pada permukaan kulit yang terkelupas setelah dipaparkan sabun cair antiseptik.	Pengamatan	Indra penglihatan (mata)	Tidak terjadi jika tidak ada tanda kulit ari terkelupas setelah dipapar sabun. Pengelupasan kulit terjadi jika ada tanda terkelupasnya kulit ari. Waktu terpapar sabun cair terhadap kulit tangan antara 12 – 72 jam setelah pemakaian.	Ordinal

F. Teknik Pengumpulan Data

Tabel 3.5 Teknik Pengumpulan Data

No	Variabel	Teknik Pengumpulan Data
1	Sabun cair minyak jelantah dengan tambahan ekstrak daun Cengkih konsentrasi 75%, 80% dan 85%.	<ol style="list-style-type: none">1. Pengukuran2. Alat ukur volumetri3. Daun cengkih didapat dari Kotaagung Timur.4. Minyak jelantah didapat dari sisa kegiatan memasak rumah tangga peneliti.
2	Jumlah kuman pada telapak tangan	<ol style="list-style-type: none">1. Pengamatan2. Alat ukur colony counter
3	Pengelupasan pada kulit telapak tangan	<ol style="list-style-type: none">1. Pengamatan2. Alat ukur Indra Penglihatan (mata)

G. Tahapan Penelitian

1. Alat dan Bahan

a. Alat

- 1) Beaker glass
- 2) Gelas ukur
- 3) Timbangan analitik
- 4) Kertas lakmus / PH meter
- 5) Thermometer
- 6) Batang Pengaduk
- 7) Spatula
- 8) Pipet ukur
- 9) Tabung reaksi
- 10) Kompor listrik
- 11) Tempat sabun cair
- 12) Cawan petridist

13) Lidi kapas steril

14) Erlenmeyer

15) Gelas ukur

16) Bunsen

17) Autoclave

18) Oven

19) Inkubator

b. Bahan

1) Minyak jelantah (hasil penjernihan)

2) Arang aktif

3) Bleaching arth

4) Ekstrak daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*)

5) KOH (Kalsium Hidroksida)

6) Minyak kelapa

7) Gliserin

8) Aquades

9) Nutrient brouth (NB)

10) PCA

11) Air

2. Cara Kerja Pembuatan Ekstrak

1. Daun cengkih yang digunakan adalah daun cengkih yang masih sehat dan segar, kemudian daun yang telah didapatkan dicuci menggunakan air bersih agar semua kotoran yang menempel hilang, setelah itu tiriskan. Kemudian lakukan proses penjemuran, proses

penjemuran ini bertujuan untuk mengurangi kemungkinan terjadinya kerusakan pada ekstrak daun cengkih dan agar ekstrak daun cengkih dapat disimpan semakin lama. Setelah proses penjemuran selesai, selanjutnya daun yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk daun cengkih, serbuk ini dinamakan dengan simplisia yang akan digunakan dalam pembuatan ekstrak.

2. Pembuatan ekstrak daun cengkih dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena kandungan *flavonoid* yang terdapat dalam daun cengkih tidak tahan pada suhu tinggi. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan pelarut yang digunakan sederhana. Ekstraksi digunakan pelarut berupa etanol 96% karena pelarut etanol adalah senyawa polar yang mudah menguap sehingga baik digunakan sebagai pelarut. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena sifat etanol yang mampu menghambat pertumbuhan kuman, absorbansinya baik, tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, sifatnya yang mampu menghambat kerja enzim dan sangat efektif dalam menghasilkan ekstrak yang optimal. Metode maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara merendam sampel dengan sesekali dilakukan pengadukan. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1:10. Sebanyak 100g serbuk simplisia di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 750 ml selama 3 hari dengan pengadukan 1x24jam selama 5 menit.

Kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan simplisia sisa pada proses maserasi si tambahkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 250 ml dan di rendam selama 2 hari dan diaduk 1 kali sehari selama 5 menit. Remaserasi dilakukan untuk memaksimalkan proses ekstraksi yang telah dilakukan pada tahap maserasi.

3. Hasil maserasi atau perendaman dari larutan tersebut disaring menggunakan kain kasa untuk mendapatkan filtrat hasil perendaman. Kemudian filtrat dipekatkan menggunakan *water bath* dengan suhu 40 – 50°C hingga diperoleh hasil akhir berupa ekstrak daun cengkih.

4. Tahap pembuatan larutan

Volume ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan berbagai macam konsekuensi yang diperlukan dapat menggunakan rumus :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan :

V1 = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

M1 = Konsentrasi ekstrak daun cengkih yang tersedia (%)

V2 = Volume larutan (air + ekstrak) yang dingin (ml)

M2 = Konsentrasi ekstrak daun cengkih (%)

Penelitian ini menggunakan 3 konsentrasi perlakuan yaitu 75%, 80%, dan 85%. Dilakukan dengan 100 ml aquades.

- a. Konsentrasi 75%

$$\text{Diketahui} \quad : M_1 = 100\%$$

$$V_2 = 100 \text{ ML}$$

$$M_2 = 75\%$$

Ditanya $V_1 = \dots\dots\dots?$

$$V_1 \cdot V_2 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 75$$

$$V_1 = 7500 / 100$$

$$V_1 = 75 \text{ ml}$$

b. Konsentrasi 80%

Diketahui : $M_1 = 100\%$

$$V_2 = 100 \text{ ML}$$

$$M_2 = 75\%$$

Ditanya $V_1 = \dots\dots\dots?$

Jawab :

$$V_1 \cdot V_2 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 80$$

$$V_1 = 8000 / 100$$

$$V_1 = 80 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 85%

Diketahui : $M_1 = 100\%$

$$V_2 = 100 \text{ ML}$$

$$M_2 = 75\%$$

Ditanya $V_1 = \dots\dots\dots?$

$$V_1 \cdot V_2 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 100 = 100 \times 75$$

$$V_1 = 8500 / 100$$

$$V_1 = 85 \text{ ml}$$

3. Prosedur Penelitian

a. Pemurnian Minyak Goreng Bekas

- 1) Proses penghilangan kotoran dan bau minyak goreng bekas
 - a) Menimbang 1 L minyak jelantah yang akan dimurnikan kemudian memasukkan ke dalam panci.
 - b) Masukkan 100 gram arang aktif ke dalam panci berisi minyak jelantah
 - c) Rendam minyak jelantah dengan arang aktif selama 1 x 24 jam
 - d) Selanjutnya pisahkan minyak jelantah dari kotoran arang aktif dengan menyaringnya menggunakan kertas saring.
- 2) Proses Pemucatan (*bleaching*)
 - a) Masukkan minyak jelantah hasil pemisahan kotoran ke dalam panci
 - b) Timbang *bleaching earth* sebanyak 100 gram
 - c) Panaskan minyak goreng hingga suhu 80°C
 - d) Setelah minyak mencapai 80°C matikan kompor dan masukkan 100 gram *bleaching earth* ke dalam minyak jelantah
 - e) Selanjutnya diamkan minyak jelantah selama 1 x 24 jam di dalam suhu ruang
 - f) Pisahkan minyak jelantah dan *bleaching earth* dengan menggunakan kertas saring
 - g) Hasil saring minyak adalah hasil akhir penjernihan minyak.

b. Proses Pembuatan Sabun Cair

- 1) Gunakan APD
- 2) Membuat larutan alkali yaitu mencampurkan KOH dengan aquades
- 3) Masukkan 10 gram KOH ke dalam 24 mL aquades, lalu aduk hingga larutan tercampur dengan sempurna
- 4) Dinginkan larutan KOH dan aquades hingga 40°C
- 5) Panaskan minyak jelantah 10 mL dan minyak kelapa 40 ml secara bersamaan hingga suhu $60^{\circ}\text{C} - 70^{\circ}\text{C}$
- 6) Masukkan larutan KOH ke dalam wadah minyak jelantah 50 mL yang telah dipanaskan, lakukan pencampuran hingga 10 – 15 menit.
- 7) Masukkan 7 gram NaCl kedalam larutan KOH dan minyak jelantah, lakukan pengadukan hingga homogen selama 20 menit.
- 8) Masukkan pasta sabun kedalam *double boiler* atau *water bath* selama 3 – 6 jam (pengecekan selama 30 menit sekali)
- 9) Timbang 100 mL aquades dan panaskan dengan *hot plate*.
- 10) Tuangkan sedikit pasta sabun yang telah dimasukkan didalam *water bath*, kedalam aquades hasil pemanasan. Aduk hingga tercampur merata
- 11) Masukkan kertas PH kedalam sabun yang telah dilarutkan aquades.
- 12) PH sabun untuk minyak kelapa dan kelapa sawit berkisar 8 – 10
- 13) Cairkan pasta sabun dengan aquades yang telah dipanaskan, dengan perbandingan 1 : 1
- 14) Selanjutnya campurkan gliserin dengan sabun di atas *hot plate*

15) Masukkan ekstrak daun cengkih (*zyzygium aromaticum*) sebanyak 10% dari total volume sabun cair.

16) Tunggu beberapa menit hingga sabun cair tercampur merata

17) Setelah sabun cair tercampur merata masukkan sabun cair kedalam kemasan.

c. Prosedur mencuci tangan menggunakan sabun

Proses cuci tangan untuk menguji sabun cair dilakukan kepada tiga orang sampel. Adapun waktu untuk melakukannya yaitu setelah sampel melakukan aktivitas. Langkah – Langkah mencuci tangan menggunakan sabun sebagai berikut : (Kesehatan Lingkungan, 2020).

- 1) Basahi tangan dengan air bersih
- 2) Gunakan 2 tetes sabun pada tangan secukupnya
- 3) Gosok telapak tangan yang satu dengan telapak tangan yang lain
- 4) Gosok punggung tangan dan sela jari
- 5) Gosok telapak tangan dan sela jari dengan posisi saling bertautan
- 6) Gosok punggung jari ke telapak tangan dengan posisi jari saling bertautan
- 7) Genggam dan basuh ibu jari dengan posisi memutar
- 8) Gosok bagian ujung jari ke telapak tangan agar bagian kuku terkena sabun
- 9) Gosok tangan yang bersabun dengan air bersih yang mengalir
- 10) Keringkan tangan dengan lap sekali pakai atau tisu

Lakukan langkah – langkah mencuci tangan menggunakan sabun seperti diatas untuk masing – masing penggunaan konsentrasi sabun cair.

d. Prosedur mencuci tangan hanya menggunakan air

Adapun waktu untuk melakukan proses mencuci tangan hanya menggunakan air yaitu setelah sampel melakukan aktivitas. Langkah – Langkah mencuci tangan hanya menggunakan air sebagai berikut :

- 1) Basahi tangan dengan air bersih
- 2) Gosok telapak tangan yang satu dengan telapak tangan yang lain
- 3) Gosok punggung tangan dan sela jari
- 4) Gosok telapak tangan dan sela jari dengan posisi saling bertautan
- 5) Gosok punggung jari ke telapak tangan dengan posisi jari saling bertautan
- 6) Genggam dan basuh ibu jari dengan posisi memutar
- 7) Gosok bagian ujung jari ke telapak tangan agar bagian kuku terkena sabun
- 8) Gosok tangan yang bersabun dengan air bersih yang mengalir
- 9) Keringkan tangan dengan lap sekali pakai atau tissue

Lakukan langkah – langkah mencuci tangan hanya menggunakan air seperti diatas untuk masing – masing sampel.

e. Proses pengambilan sampel swab tangan

Pengambilan sampel swab (per satu kali pengulangan) tangan dilakukan pada saat sebelum dan setelah mencuci tangan dengan sabun. Cara

pengambilan sampel menggunakan metode *Swab* pada telapak tangan dan sela-sela jari tangan relawan sebagai berikut :

- 1) Gunakan APD dengan baik dan benar
- 2) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam pengambilan sampel swab tangan secara aseptik
- 3) Sterilisasi pipet ukur, tabung ukur dan cawan petri dan dibungkus dengan kertas buram. Alat – alat tersebut dimasukkan ke dalam oven selama 1 jam pada suhu 180⁰C.
- 4) Pembuatan Media Nutrient broth (NB) 1,6 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Akuades ditambahkan sebanyak 200 ml dan dilarutkan hingga homogen. Larutan NB dimasukan dalam 5 tabung reaksi sebanyak 10 ml dan ditutup rapat menggunakan kapas. Tabung reaksi diberi label dengan angka, 10⁻¹, 10⁻² , 10⁻³ , 10⁻⁴. Media NB disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C selanjutnya masukan 1 lidi kapas steril kedalam tabung reaksi dengan label 10⁻¹, dan di diam kan selama 30 menit.
- 5) PCA ditimbang dan dimasukan kedalam erlenmeyer sebanyak 3,5 gram. Akuades ditambahkan menggunakan gelas ukur sebanyak 200 ml. Larutan dipanaskan pada suhu 80⁰C dalam penangas air sampai homogen. Medium PCA disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C dan diusahakan media tetap keadaan cair (>45⁰C) sebelum sampel dimasukkan.

- 6) Isolasi bakteri dilakukan dengan teknik tuang (*pour plate method*) sesuai dengan Standart *Plate Count Method*. Swab kapas diambil dari dalam tabung NB secara aseptis. Swab kapas diperas dengan mengulirkan kapas pada dinding tabung hingga tidak ada cairan NB yang menetes. Kapas diambil dari tabung reaksi yang bertuliskan label 10^{-1} dan diambil 1 ml larutan dari tabung 10^{-1} bersamaan dengan kapas dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertuliskan label 10^{-2} dan dihomogenkan. Selanjutnya dilakukan sampai pengenceran 10^{-4} . Larutan 10^{-4} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan kedalam cawan petridist, kemudian ditambahkan NB dan dibiarkan sampai membeku, lalu di inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam di dalam inkubator.
- 7) Perhitungan Jumlah Koloni, Koloni bakteri yang tumbuh setelah 24 – 48 jam dihitung dengan cara manual menggunakan alat *colony counter*. Cara menghitung jumlah koloni bakteri adalah koloni yang menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar, dapat dihitung sebagai satu koloni dan suatu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal juga dihitung sebagai satu koloni (Kartika et al., 2017).

H. Pengumpulan Data dan Teknik Analisis Data

1. Pengumpulan data

Data primer di peroleh dari laboratorium hasil dari pemeriksaan jumlah kuman pada telapak tangan dari sempel sebelum dan sesudah perlakuan dan pengelupasan kulit telapak tangan relawan Wanita yang dijadikan sampel.

Setelah dilakukan pengumpulan data dilanjutkan dengan pengolahan dan analisis data.

2. Teknik Analisis data

a. Analisis univariat

Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan karakteristik setiap variabel penelitian. Bentuk analisis univariat tergantung dari jenis datanya. Untuk data numerik, digunakan nilai mean atau rata – rata, median dan standar deviasi (Notoatmodjo, 2010). Untuk mencari nilai mean dan atau rata – rata, median standar deviasi maka menggunakan Descriptive Statistic. Variabel yang diuji secara univariat adalah presentase penurunan angka kuman setelah menggunakan sabun cair antiseptik minyak jelantah dengan tambahan ekstark daun cengkih (*Zyzygium aromaticum*).

b. Uji normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah populasi data berdistribusi normal atau tidak. Uji statistika normalitas yang dapat digunakan diantaranya *Chi-Square*, *Kolmogorov Smirnov*, *Lilliefors*, *Shapiro Wilk*, *Jaque Bera*. Uji normalitas ini digunakan untuk menentukan teknik analisis pengujian hipotesis. Dalam penelitian ini uji normalitas dilakukan sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan dari sampel penelitian. Pada penelitian ini untuk pengujian normalitas menggunakan pengujian *Shapiro-wilk*, yaitu metode pengujian normalitas yang efektif dan valid digunakan untuk sampel berjumlah <30.

Untuk mempermudah pengujian, peneliti menggunakan bantuan aplikasi SPSS Versi 26 untuk melakukan analisis normalitas instrumen ini.

Dasar pengambilan keputusan dalam uji normalitas adalah :

- 1) Jika sig. (signifikansi) $< 0,05$, maka data berdistribusi tidak normal.
- 2) Jika sig. (signifikansi) $> 0,05$, maka data berdistribusi normal.

Apabila data yang diuji berdistribusi normal maka pengujian hipotesis menggunakan *paired sample t – test*.

c. Pengujian Hipotesis

1) Uji *t – Test*

Penelitian hipotesis ini menggunakan uji *paired sampel t-test* namun jika tidak terdistribusi normal maka uji yang digunakan yaitu uji *wilcoxon*. Uji ini digunakan untuk mengetahui hubungan antara jumlah koloni bakteri sebelum dan sesudah mencuci tangan pada relawan. Uji – t berpasangan (*paired t-test*) adalah salah satu metode pengujian hipotesis dimana sampel yang digunakan berpasangan. Ciri-ciri yang paling sering ditemui pada kasus yang berpasangan adalah satu individu (objek penelitian) dikenai dua buah perlakuan yang berbeda. Walaupun menggunakan individu yang sama, peneliti tetap memperoleh 2 macam data sampel, yaitu data dari perlakuan pertama dan data dari perlakuan kedua (Nuryadi et al., 2017). *Paired sample t – test* merupakan salah satu metode pengujian yang digunakan untuk mengkaji keefektifan perlakuan, ditandai adanya perbedaan rata-rata sebelum dan rata – rata sesudah diberikan perlakuan.

Asumsi dasar pengujian ini adalah observasi atau penelitian untuk masing – masing pasangan harus dalam kondisi yang sama. Perbedaan rata-rata harus berdistribusi normal. Varian masing-masing variabel dapat sama atau tidak. Untuk melakukan uji ini, diperlukan data yang berskala interval atau ratio. Yang dimaksud dengan sampel berpasangan adalah kita menggunakan sampel yang sama, tetapi pengujian yang dilakukan terhadap sampel tersebut dua kali dalam waktu yang berbeda atau dengan interval waktu tertentu. Pengujian dilakukan dengan menggunakan significant 0.05 ($\alpha=5\%$) antar variabel independen dengan variabel dependen.

Dasar pengambilan keputusan untuk menerima atau menolak H_0 pada uji ini adalah sebagai berikut :

- a. Jika nilai signifikan $> 0,05$ maka H_0 diterima atau H_a ditolak (perbedaan kinerja tidak signifikan).
- b. Jika nilai signifikan < 0.05 maka H_0 ditolak atau H_a diterima (perbedaan kinerja signifikan).

Pengujian ini untuk membuktikan apakah sampel penelitian sebelum dan setelah perlakuan memiliki rata-rata yang berbeda secara signifikan ataupun tidak.