



**OPTIMALISASI AGAR COKLAT DARAH MANUSIA
SEBAGAI MEDIA UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK
TERHADAP *Haemophilus influenzae*:
PERAN *PACKED RED CELL***

**LAPORAN HASIL
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian hasil Karya Tulis Ilmiah
mahasiswa Program Strata-1 Kedokteran Umum**

ANISA RIZKA

G2A008025

PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS DIPONEGORO

2012

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN HASIL KTI

**OPTIMALISASI AGAR COKLAT DARAH MANUSIA
SEBAGAI MEDIA UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK
TERHADAP *Haemophilus influenzae*:
PERAN *PACKED RED CELL***

Disusun oleh :

ANISA RIZKA

G2A008025

Telah disetujui :

Semarang, 8 Agustus 2012

Dosen Pembimbing

Penguji

dr. Helmia Farida, M. Kes, Sp.A

19661213 200112 2 001

dr. Endang Sri Lestari, Ph.D

19661016199702 2 001

Ketua Penguji

dr. Subakir, Sp.MK, Sp.KK(K)

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan ini,

Nama : Anisa Rizka

NIM : G2A008025

Alamat : Jl. Mugas Barat IX/12 Semarang

Mahasiswa : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas kedokteran
UNDIP

Judul KTI : Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Uji

Sensitivitas Antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae*:

Peran *Packed Red Cell*

Dengan ini menyatakan bahwa:

- 1) KTI ini ditulis sendiri tulisan asli saya sendiri tanpa bantuan orang lain selain pembimbing dan narasumber yang diketahui oleh pembimbing
- 2) KTI ini sebagian atau seluruhnya belum pernah dipublikasi dalam bentuk artikel ataupun tugas ilmiah lain di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain
- 3) Dalam KTI ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis orang lain kecuali secara tertulis dicantumkan sebagai rujukan dalam naskah dan tercantum pada daftar kepustakaa

Semarang, 8 Agustus 2012

Yang membuat pernyataan,

Anisa Rizka

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya kami dapat menyelesaikan tugas Karya Tulis Ilmiah ini. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Kami menyadari sangatlah sulit bagi kami untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak penyusunan proposal sampai dengan terselesaikannya laporan hasil Karya Tulis Ilmiah ini. Bersama ini kami menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Kementerian Pendidikan Nasional Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian kami melalui lomba PKMP DIKTI
2. Rektor Universitas Diponegoro Semarang yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk menimba ilmu di Universitas Diponegoro.
3. Dekan Fakultas Kedokteran UNDIP yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan tugas ini dengan baik dan lancar.
4. dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing kami dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Orang tua beserta keluarga kami yang senantiasa memberikan dukungan moral maupun material.
6. Radith Aulia, Duta Indriawan, dan M. Ali Akbar yang selalu menemani saat penelitian
7. Para sahabat yang memberi dukungan menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah Ini.
8. Pak Seno dan Pak Wur yang selalu membantu pelaksanaan penelitian di laboratorium mikrobiologi

9. Serta pihak lain yang tidak mungkin kami sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis ini dapat terselesaikan dengan baik.

Akhir kata, kami berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, 8 Agustus 2012

Anisa Rizka

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan Penelitian.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Haemophilus influenzae</i>	6
2.1.1 Pendahuluan	6
2.1.2 Kultur	8
2.2 Media Uji Sensitivitas	9
2.2.1 Mueller Hinton agar	9
2.2.2 <i>Haemophilus Test Medium</i> (HTM).....	10

2.2.3 Agar coklat dari darah domba(ACD).....	11
2.2.4 Agar coklat dari darah manusia (ACM).....	12
2.2.4.1 Pengaruh peningkatan kadar hemoglobin	14
2.3 Metode uji sensitivitas antibiotik	16
2.3.1 Metode difusi	16
2.4 Pemilihan obat untuk uji sensitivitas	17
2.5 Interpretasi diameter zona inhibisi	18
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	19
3.1 Kerangka teori	19
3.2 Kerangka konsep	20
3.3 Hipotesis.....	21
3.3.1 Hipotesis mayor	21
3.3.2 Hipotesis minor	21
BAB IV METODE PENELITIAN	23
4.1 Ruang lingkup penelitian	23
4.1.1 Ruang lingkup keilmuan	23
4.1.2 Ruang lingkup tempat	23
4.1.3 Ruang lingkup waktu	23
4.2 Rancangan penelitian	23
4.3 Populasi dan sampel.....	23
4.3.1 Sampel penelitian	23
4.3.1.1 Kriteria inklusi	24
4.3.1.2 Kriteria eksklusi	24
4.3.2 Besar replikasi	24
4.4 Variabel penelitian	25
4.4.1 Variabel bebas	25
4.4.2 Variabel terikat.....	25
4.4.3 Definisi operasional	26
4.5 Materi/alat penelitian	28
4.5.1 Alat.....	28
4.5.1 Bahan	28

4.6 Cara pengumpulan data.....	28
4.6.1 Jenis data.....	28
4.6.2 Waktu dan tempat pengumpulan data.....	29
4.6.3 Cara kerja.....	29
4.6.3.1 Pembuatan media uji sensitivitas antibiotik.....	29
4.6.3.1.1 <i>Haemophilus test medium</i> (HTM).....	29
4.6.3.1.2 Agar coklat darah domba (ACD).....	29
4.6.3.1.3 Agar coklat darah manusia.....	30
4.6.3.2 Uji sensitivitas antibiotik.....	30
4.7 Alur penelitian.....	32
4.8 Analisis data.....	33
4.9 Etika penelitian.....	33
BAB V HASIL.....	34
5.1 Analisis sampel.....	34
5.2 Hasil penelitian.....	35
BAB VI PEMBAHASAN.....	39
BAB VII SIMPULAN DAN SARAN.....	46
7.1 Simpulan.....	46
7.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel1. Batas-batas diameter zona inhibisi untuk galur kontrol.....	18
Tabel 2. Tabel besar nilai <i>Kappa</i>	35
Tabel3. Data interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik pada media HTM, ACD, ACMSt, dan ACMH.....	36
Tabel 4. Perbandingan harga media HTM, ACD, ACMH untuk tiap <i>plate</i>	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Pengecatan gram <i>H.influenza</i> yang berasal dari sputum, tampak sebagai gram-negatif kokobasil.....	7
Gambar 2. Media Mueller hinton agar (a) dan Media Mueller Hinton agar yang telah ditempli cakram antibiotik dan terlihat zona jernih (zona inhibisi) di sekitarnya(b).....	10
Gambar 3. Agar coklat dari darah domba(a) dan ACD yang ditempli cakram antibiotik dan terlihat zona inhibisi (b)	12
Gambar 4. Grafik nilai <i>Kappa</i> berbagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap <i>H.influenzae</i>	36

DAFTAR SINGKATAN

2,3 DPG	: 2,3 difosfoglisarat
ACD	: Agar coklat dari darah domba
ACM	: Agar coklat dari darah manusia
ACMH	: Agar coklat dari darah manusia dengan peningkatan kadar Hb
ACMSt	: Agar coklat dari darah manusia dengan Hb standar
ATP	: Adenosina trifosfat
ATPase	: Adenosin trifosfatase
CAMP	: <i>Christie Atkins Munch-Petersen</i>
CLSI	: <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
Hb	: Hemoglobin
HTM	: <i>Haemophilus test medium</i>
LCS	: <i>Liquid cerebro spinal</i>
NAD	: Nikotinamida adenina dinukleotida
SPSS	: <i>Statistical Program for Social Science</i>
WHO	: <i>World health organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	52
Lampiran 2. <i>Spreadsheet</i> data	53
Lampiran 3. Hasil analisis data	58
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian	68
Lampiran 5. Biodata mahasiswa	70

ABSTRAK

Latar Belakang: Media standar untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae* adalah *Haemophilus Test Medium* (HTM). Pengadaannya yang sulit dan mahal membuat uji standar rutin untuk *Haemophilus influenzae* jarang dilakukan. Di Indonesia penggunaan darah manusia sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae* belum pernah dilakukan sebelumnya.

Tujuan: Membandingkan kesesuaian hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* pada media ACD,ACMSt, dan ACMH, dengan HTM untuk mendapatkan alternatif media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* sebaik HTM

Metode: Penelitian ini menggunakan desain *True experimental post test only*. Uji sensitivitas antibiotik dengan metode difusi cakram (CLSI 2011) pada media HTM,ACD,ACMSt,ACMH terhadap 11 strain *H.influenzae*. Analisis data menggunakan uji statistik Kappa dengan nilai kesesuaian minimum $k > 0,80$ (kesesuaian sangat baik).

Hasil: Pada media ACD, $k > 0,80$ hanya dicapai oleh 40% antibiotik yang diuji (kloramfenikol dan kotrimoksazol). Pada media ACMSt, kesesuaian sangat baik hanya dicapai oleh 60% antibiotik yang diuji (kloramfenikol, kotrimoksazol, dan tetrasiklin). Pada media ACMH, kesesuaian sangat baik dicapai oleh semua (100%) antibiotik yang diuji (kloramfenikol, kotrimoksazol, tetrasiklin, amoksisilin-asam klavulanat, dan seftriakson).

Kesimpulan: ACMH dapat dijadikan sebagai media alternatif untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*.

Kata kunci: *Haemophilus influenzae*, hemoglobin, agar coklat, darah manusia, uji sensitivitas antibiotik

ABSTRACT

Background: The standard medium for antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* is Haemophilus Test Medium (HTM). It is difficult to provide and expensive, causing standard routine test for *Haemophilus influenzae* is very rarely done. In Indonesia the use of human blood as a medium for antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* has not been done.

Aim: To compare the agreement of the results of antimicrobial susceptibility testing of *H.influenzae* in ACD, ACMSt, and ACMH, with HTM to find an alternative medium for antimicrobial susceptibility testing of *H.influenzae* as HTM

Methods: The design study used a True experimental post-test only. Antimicrobial susceptibility test was carried on by disc diffusion method (CLSI 2011) on HTM, ACD, ACMSt, ACMH against 11 strains of *H.influenzae*. Data were analyzed by Kappa agreement test with the minimum agreement $k > 0.80$ (very good agreement).

Results: For ACD, $k > 0.80$ were only achieved by 40% antibiotic tested (chloramphenicol and cotrimoxazole). For ACMSt, very good agreement was achieved only by 60% antibiotic tested (chloramphenicol, cotrimoxazole, and tetracycline). For ACMH, very good agreement was achieved by all(100%) of the antibiotics tested (chloramphenicol, co-trimoxazole, tetracycline, amoxicillin-clavulanic acid, and ceftriaxone).

Conclusion: ACMH could be used as an alternative medium for antimicrobial susceptibility testing of *H.influenzae*.

Keywords: *Haemophilus influenzae*, hemoglobin, chocolate agar, human blood, antimicrobial susceptibility testing

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Haemophilus influenzae adalah bakteri gram negatif, kokobasil, kecil, tidak membentuk spora, dan pleomorfik.^{1,2} *H.influenzae* merupakan bakteri patogen penyebab meningitis, pneumonia, dan penyakit serius lainnya, serta bertanggung jawab untuk lebih dari 3 juta penyakit dan 386.000 kematian akibat meningitis dan pneumonia di seluruh dunia.³

Angka kesakitan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *H.influenzae* di Indonesia masih tinggi. Menurut Riskedas 2007, pneumonia merupakan penyakit penyebab kematian kedua tertinggi setelah diare di antara balita, dan *H.influenzae* merupakan penyebab tersering kedua dari penyakit ini.⁴ Penyakit lain yang sering disebabkan oleh *H.influenzae* dan memiliki angka kesakitan dan kematian yang tinggi adalah meningitis.^{5,6}

Bakteri ini sulit ditumbuhkan (*fastidious*) karena hanya tumbuh pada media yang mengandung darah atau bagian dari darah yaitu hemin (faktor X) dan Nikotinamida Adenina Dinukleotida (NAD/faktor V), serta memerlukan inkubasi pada suhu 35°C dengan konsentrasi CO₂ 5,5%.⁷

Haemophilus Test Medium (HTM) adalah media standar untuk melakukan uji sensitivitas terhadap *H.influenzae*. Komposisi dari *Haemophilus Test Medium* adalah Mueller Hinton Agar yang ditambahkan faktor X dan faktor V, serta ekstrak *yeast*.³ Harganya yang mahal dan tidak tersedianya media tersebut di Indonesia membuat uji sensitivitas untuk *H.influenzae* jarang dilakukan.

Resistensi antibiotik masih menjadi masalah terdepan dalam pengobatan modern. Uji sensitivitas rutin dengan media yang tepat, penting untuk mengatasi masalah resistensi ini, termasuk resistensi *H.influenzae* terhadap antibiotik. Pengadaan media uji sensitivitas yang mudah serta biaya yang murah mutlak menjadi syarat untuk dapat dilakukannya uji sensitivitas secara rutin.

Pada penelitian ini digunakan darah manusia sebagai penyedia faktor X dan V, di mana darah manusia merupakan darah yang mudah pengadaanya dan harganya murah. Namun, darah manusia memiliki banyak faktor inhibisi yang akan merusak faktor X dan V pada pemanasannya sehingga *H.influenzae* tidak dapat tumbuh dengan baik bila dibandingkan dengan media dengan darah domba. Penelitian yang dilakukan oleh Risang B. tahun 2011, menunjukkan bahwa agar coklat dari darah manusia yang ditingkatkan kadar hemoglobinnnya (*menggunakan packed red cell*) dapat menumbuhkan *H.influenzae* sebaik agar coklat dari darah domba.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian mengenai optimalisasi agar coklat darah manusia yang dimodifikasi dengan

menggunakan *packed red cell* sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* dengan harapan penelitian ini dapat dijadikan inovasi atau alternatif baru, terutama dalam bidang kedokteran.

1.2 Permasalahan penelitian

Apakah terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* pada media agar coklat dari darah domba (ACD), agar coklat dari darah manusia dengan Hb standar (ACMSt), dan agar coklat darah manusia dengan peningkatan kadar hemoglobin (ACMH) dengan media standar *Haemophilus Test Medium* (HTM)?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui cara modifikasi terbaik pembuatan agar coklat darah manusia sehingga dapat digunakan sebagai media alternatif uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* sebaik HTM.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membandingkan kesesuaian hasil uji sensitivitas antibiotik amoksisilin-asam klavulanat terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt, dan ACMH dengan HTM
2. Membandingkan kesesuaian hasil uji sensitivitas antibiotik seftriakson terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt, dan ACMH dengan HTM

3. Membandingkan kesesuaian hasil uji sensitivitas antibiotik kloramfenikol terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt, dan ACMH dengan HTM
4. Membandingkan kesesuaian hasil uji sensitivitas antibiotik kotrimoksazol terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt, dan ACMH dengan HTM
5. Membandingkan kesesuaian hasil uji sensitivitas antibiotik tetrasiklin terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt, dan ACMH dengan HTM

1.4 Manfaat penelitian

1. Memberikan dasar ilmiah tentang penggunaan agar coklat darah manusia sebagai pengganti agar coklat darah domba dan HTM sebagai media uji sensitivitas *H.influenzae*.
2. Membantu laboratorium untuk mengoptimalkan agar coklat darah manusia sebagai media uji sensitivitas *H.influenzae* sehingga dapat dilakukan secara rutin untuk menentukan pengobatan yang tepat dan efisien.
3. Memberikan bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya tentang media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*.

1.5 Keaslian Penelitian

Tahun	Peneliti	Judul	Hasil
2011	Risang Bagaskoro	Pengaruh Peningkatan Kadar Hemoglobin terhadap Pertumbuhan <i>Haemophilus influenzae</i> pada Media Agar Coklat dari Darah Manusia	Media agar coklat manusia dengan modifikasi peningkatan kadar Hb dapat menumbuhkan <i>H.influenzae</i> sebaik media agar darah domba
1987	Jorgensen J.H., Redding S. S., Maher L.A. dan Howell A.W	<i>Improved medium for antimicrobial susceptibility testing of Haemophilus influenzae.</i>	Media HTM lebih mudah menginterpretasi hasil tes daripada media Mueller Hinton coklat agar (Mueller hinton agar yang disuplementasi dengan 1% Hb sapi dan 1% IsoVitalex)

Pada penelitian Risang Bagaskoro hanya meneliti media agar coklat dari darah manusia sebagai media kultur *Haemophilus influenzae*, sedangkan pada penelitian ini digunakan sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae*. Penelitian oleh Jorgensen dkk. membandingkan HTM dengan Mueller Hinton coklat agar, sedangkan pada penelitian ini membandingkan HTM dengan agar coklat dari darah domba dan dari darah manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Haemophilus influenzae*

2.1.1. Pendahuluan

Haemophilus influenzae merupakan bakteri gram negatif, kokobasil, kecil, tidak membentuk spora, dan pleomorfik. Organisme ini berukuran kira-kira 1,5 μm dengan bentuk kokobasil yang berpasangan atau berantai. Morfologi ini tergantung pada media dan umur pembenihan, 6-8 jam setelah ditanam pada media yang diperkaya, bentuk kokobasil lebih dominan kemudian bentuk menjadi lebih panjang, mengalami lisis dan pleomorfik.¹

Terdapat dua *serotype* untuk *H.influenza* yaitu berkapsul dan tidak berkapsul. Kapsul dibentuk pada biakan singkat (6-18 jam) pada media yang diperkaya. Kapsul adalah antigen yang digunakan sebagai typing *H.influenzae*. Enam tipe kapsul untuk *H.influenza* yang sudah dapat dikenali yaitu tipe a,b,c,d,e,dan f.¹

Kapsul polisakarida tersebut menyebabkan kuman resisten untuk difagosit dan dilisiskan oleh komplemen. Salah satu tipe kapsul tersebut yaitu Hib diketahui menjadi penyebab utama dari meningitis, pneumonia, empiema, epiglottitis, selulitis, artritis septik, purulen

perikarditis, endokarditis, dan osteomielitis.⁸ Organisme yang tidak berkapsul (*nontypeable*) merupakan flora normal saluran nafas manusia, namun *H.influenza* berkapsul tipe b (Hib) dapat pula ditemukan pada saluran napas atas 2-4% manusia normal.¹ *Haemophilus influenzae nontypeable* cenderung menyebabkan bronkitis kronis, otitis media, sinusitis, dan konjungtivitis yang terjadi setelah turunnya daya tahan tubuh normal. Walaupun tipe b dapat menyebabkan bronkitis kronis, otitis media, sinusitis, dan konjungtivitis, namun hal ini lebih jarang terjadi dibandingkan dengan *H. influenzae nontypeable*.¹ Sama dengan tipe b, *H. influenzae nontypeable* hanya kadang-kadang menyebabkan penyakit invasif.



Gambar 1. Pengecatan gram *H.influenza* yang berasal dari sputum, tampak sebagai Gram-negatif *coccobacilli*.⁹

Diagnosis *H.influenza* secara laboratoris dapat dilakukan dengan kultur, *latex particle agglutination*, maupun PCR. Spesimen diambil dari bagian tubuh yang steril dari kuman tersebut. Adanya *H.influenza* pada sputum atau dari nasopharyng tidak mengindikasikan adanya infeksi *H.influenza* sebab kuman tersebut dapat ditemukan pula pada

manusia normal dengan spesimen tersebut. Beda halnya apabila kuman *H.influenza* ditemukan di LCS atau darah, hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat infeksi *H.influenza*.¹⁰

Haemophilus influenza juga memiliki interaksi dengan *Streptococcus pneumonia* yang juga merupakan flora normal saluran nafas atas. Pada salah satu penelitian in vitro dikemukakan bahwa *S.pneumonia* mendominasi pertumbuhan *H.influenza* dengan cara menghasilkan hydrogen peroksida dan mengurangi area tumbuh *H.influenza*. Apabila *H.influenza* bersama dengan *S. pneumonia* ditempatkan bersama pada cavum nasi selama 2 minggu, hanya *H.influenza* saja yang akan bertahan hidup karena *S.pneumonia* yang mati akan mengirimkan sinyal kepada sistem imun host untuk memfagositnya.¹¹

2.1.2 Kultur

Pertumbuhan *Haemophilus influenzae* membutuhkan faktor X yang merupakan suatu kelompok tetrapirol yang stabil terhadap pemanasan dan berasal dari pigmen-pigmen yang mengandung besi (misalnya hemin, hematin, protoporfirin IX). Senyawa ini digunakan bakteri untuk membentuk enzim katalase, oksidase, dan sitokrom dari sistem transport.¹² *Haemophilus influenzae* juga membutuhkan faktor V, yaitu Nikotinamida Adenina Dinukleotida (NAD). Kedua faktor di

atas terdapat dalam eritrosit, termasuk eritrosit domba. Namun, kedua hal di atas tidak dapat dimanfaatkan oleh *H.influenzae* apabila eritrosit masih utuh. Pada proses pembuatan media agar darah untuk pertumbuhan *H.influenzae* dilakukan pemanasan hingga suhu 80⁰C untuk melisiskan eritrosit, sehingga faktor X dan V dapat terlepas dari eritrosit. Pemanasan tersebut menyebabkan perubahan warna pada agar darah menjadi coklat sehingga disebut agar coklat.¹³

H. influenza tumbuh pada lingkungan dengan suhu 37⁰C dan CO₂ 5,5%, serta pH optimum 7,6 walaupun kuman tersebut dapat tumbuh pada suasana aerob dengan menggunakan nitrat sebagai akseptor elektron final. *Haemophilus influenza* juga dapat tumbuh pada zona hemolisis *Staphylococcus aureus* karena di zona tersebut terdapat faktor X dan V yang dibutuhkannya untuk tumbuh. Tampilan koloni *H.influenza* pada coklat agar yaitu koloni transparan, keabu-abuan atau kehijauan, cembung, dan memiliki bau khas (*mousy odor*).¹⁴

2.2 Media uji sensitivitas

2.2.1 Mueller Hinton agar

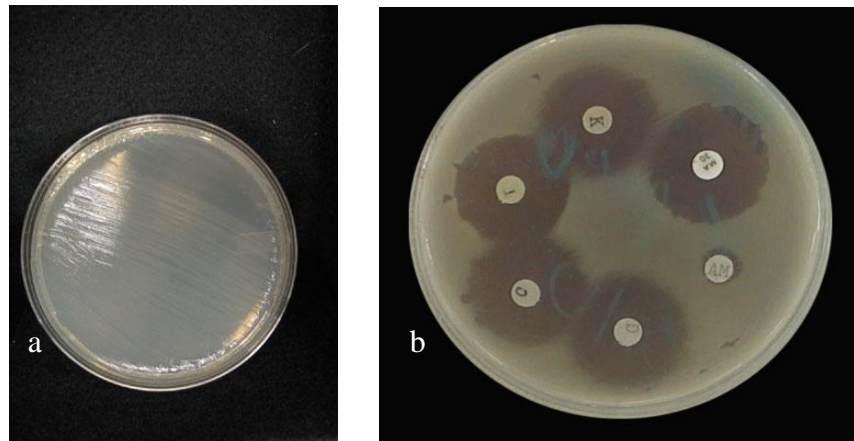
Menurut Bauer, Kirby, dkk pada tahun 1966, Mueller Hinton Agar merupakan media standar uji sensitivitas antibiotik secara umum¹⁵, tetapi bukan media yang baik untuk bakteri yang *fastidious* (sukar tumbuh) seperti *Haemophilus sp.* karena merupakan bakteri yang dalam pertumbuhannya membutuhkan media yang telah diperkaya yaitu faktor

X dan V. Selain itu, uji sensitivitas difusi cakrahnya mungkin memberi hasil yang tidak tepat jika tidak mengikuti teknik yang sesuai secara ketat.

Komposisi Mueller-Hinton agar¹⁶ :

Ekstrak sapi..	4,0 g/L
Asam kasein hidrolisat	17,5 g/L
Pati.....	1,5 g/L
Agar	15,0 g/L

Final pH $7,3 \pm 0,2$ pada 25°C



Gambar 2. Media Mueller hinton agar (a) dan Media Mueller Hinton agar yang telah ditempelinya cakram antibiotik dan terlihat zona jernih (zona inhibisi) di sekitarnya(b)^{17,18}

2.2.2. *Haemophilus Test Medium (HTM)*

Pada tahun 1987 Dr. Jorgensen,dkk mengembangkan media uji sensitivitas antibiotik *Haemophilus influenzae* baru dengan menambahkan faktor X (hemin atau hematin) dan faktor V (Nikotinamida Adenina Dinukleotida) pada Mueller Hinton agar. Namun, selain banyak strain yang tumbuh, banyak juga yang tidak

tumbuh dengan baik, sehingga untuk merangsang pertumbuhannya ditambahkan ekstrak *yeast* pada konsentrasi 0.5% ke dalam media agar, media inilah yang disebut *Haemophilus Test Medium* (HTM).¹⁹ Oleh karena itu, HTM direkomendasikan sebagai media standar uji sensitivitas antibiotik *H.influenzae* menggantikan agar coklat.²⁰

Komposisi *Haemophilus Test Medium* (HTM) :²¹

Ekstrak sapi	2,0 g/L
Asam hidrolisis dari kasein.....	17,5g/L
Pati.....	1,5g/L
Ekstrak <i>yeast</i>	5,0g/L
Agar	17,0g/L
Hematin sapi	15,0 mg
Nikotinamida Adenina Dinukleotida (NAD) ...	15,0 mg
pH akhir 7,3 ± 0,1 pada 25°C	

2.2.3. Agar coklat dari darah domba (ACD)

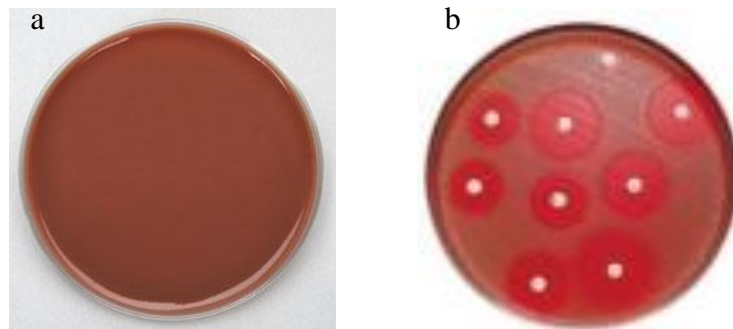
Agar darah domba banyak digunakan untuk menumbuhkan kuman yang susah tumbuh karena membutuhkan media dengan kandungan nutrisi yang kompleks. Agar darah domba juga digunakan untuk identifikasi jenis kuman. Agar coklat dari darah domba merupakan Mueller Hinton agar yang ditambahkan 5% darah domba. Penggunaan agar darah domba didasarkan pada ketersediaan faktor X dan faktor V sebagai penyedia nutrisi media uji sensitivitas antibiotik *H.influenzae*.

Mueller Hinton agar yang telah disuplementasi dengan faktor X dan faktor V juga dapat dijadikan sebagai media uji nonselektif isolasi *H.influenzae*.²²

Komposisi agar coklat dari darah domba (ACD):²³

Ekstrak sapi	2,0 g/L
Asam hidrolisat dari kasein	17,5 g/L
Pati	1,5 g/L
Agar	17,0 g/L
Darah domba terdefibrinasi	5,0%

pH akhir $7,3 \pm 0,1$ pada 25°C



Gambar 3. Agar coklat dari darah domba(a) dan ACD yang ditempel cakram antibiotik dan terlihat zona inhibisi (b)^{24,25}

2.2.4 Agar coklat dari darah manusia (ACM)

Agar coklat dari darah manusia adalah Mueller hinton agar dengan penambahan darah manusia sebagai penyedia nutrisinya atau sebagai pemberi faktor X dan V. Darah manusia digunakan dengan anggapan bahwa darah manusia mudah didapat serta murah. Darah

manusia yang digunakan didapatkan dari bank darah yang merupakan sisa darah yang tidak terpakai. Beberapa bakteri menunjukkan perubahan pola pertumbuhan dan hemolisis pada agar plate dengan darah manusia yang dapat mengakibatkan misdiagnosis. Salah satu penelitian menunjukkan bahwa eritrosit manusia secara substansial lebih besar daripada darah domba.

Perbedaan jumlah sfingomyelin pada membran eritrosit sering menyebabkan ketidaksesuaian hasil tes CAMP. Reaksi CAMP umumnya digunakan untuk mengidentifikasi *Streptococcus* grup β melibatkan dua faktor CAMP yang disekresi oleh *Streptococcus* grup β dan sfingomyelinase yang disekresi oleh *Staphylococcus aureus*. Aktivitas hidrolisis dari sfingomyelin yang terdapat di membran sel darah merah mensintesisasi eritrosit untuk lisis karena adanya faktor CAMP, sehingga dengan demikian mampu menghasilkan area hidrolisis lebih luas ketika *Streptococcus* grup β tumbuh berdekatan dengan koloni *Staphylococcus aureus*. Sel eritrosit manusia yang hanya mengandung 26% sfingomyelin yang kurang mampu mendukung proses terjadinya reaksi CAMP dibanding 51% sfingomyelin yang dikandung membran eritrosit domba.²⁶

Komplemen dan antibodi yang kompatibel dengan patogen pada manusia juga mejadi faktor yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada media agar yang menggunakan darah manusia. Komplemen yang terdapat dalam darah bersifat *heat labile* dan akan

inaktif pada suhu 56 °C, sedangkan antibodi lebih stabil terhadap pemanasan dan akan tereliminasi dengan pencucian yang lebih intensif.²⁷

Penggunaan darah manusia yang sudah kadaluarsa memberikan masalah di mana darah yang disimpan mengalami perubahan morfologi dan biokimia. Perubahan yang terjadi pada darah yang disimpan antara lain kerusakan pada protein dan lipin membran akibat reaksi oksidatif, penurunan pH, penurunan kandungan ATP, hilangnya 2,3 difosfoglisarat (2,3 DPG) serta peningkatan kalium ekstraselular akibat dari disfungsi Na^+K^+ ATPase. Perubahan tersebut meningkat seiring dengan bertambah panjangnya waktu penyimpanan. Penyimpanan yang terlalu lama (45 hari) akan mengubah struktur dari eritrosit yang tadinya bikonkaf menjadi bentuk yang disebut ekinosit. Bentuk ekinosit ini menyebabkan penurunan deformabilitas membrane. Selain faktor eritrosit, darah manusia mempunyai antibodi yang dapat menghambat pertumbuhan *H.influenza* tipe b.²⁸

2.2.4.1 Pengaruh peningkatan kadar hemoglobin

Hemoglobin adalah suatu pigmen (yaitu, secara alamiah berwarna) yang terkandung di dalam eritrosit dan bertugas mengangkut oksigen dan karbon dioksida. Molekul hemoglobin terdiri dari dua bagian : 1. Bagian globin, suatu rantai protein yang terbentuk dari empat rantai polipeptida yang sangat berlipat-lipat,

dan 2. Gugus nitrogenosa nonprotein mengandung besi yang dikenal sebagai gugus hemin, yang masing-masing terikat satu polipeptida. Setiap atom besi dapat berikatan secara reversibel dengan satu molekul oksigen; dengan demikian setiap molekul hemoglobin dapat mengangkut empat penumpang oksigen. Karena oksigen kurang larut dalam plasma, 98.5% oksigen yang terangkut dalam darah terikat pada hemoglobin.²⁹

Untuk memaksimalkan kandungan hemoglobinnya, sebuah eritrosit dipenuhi oleh ratusan juta molekul hemoglobin dengan menyingkirkan hampir segala sesuatu lainnya. Dengan demikian, sel darah merah pada dasarnya adalah suatu kantong terbungkus membrane plasma yang dipenuhi hemoglobin.²⁹

Penambahan darah domba atau kuda pada saat pembuatan agar coklat menyediakan kebutuhan *Haemophilus influenza* akan faktor X (hemin). *Haemophilus influenza* adalah bakteri *fastidious* yang membutuhkan faktor V dan faktor X dalam pertumbuhannya. Darah domba atau kuda yang dipanaskan pada suhu tertentu dapat melisiskan eritrosit tanpa merusak faktor X dan V tersebut.

Di Indonesia, penggunaan darah manusia sebagai pengganti darah domba atau kuda untuk pembuatan agar coklat rutin dilakukan. Namun, hasilnya masih belum bisa menumbuhkan *Haemophilus influenza* sebaik di agar coklat yang menggunakan darah domba atau kuda. Mencoba mengoptimalkan penggunaan

darah manusia, dalam penelitian ini pembuatan agar coklat dari darah manusia digunakanlah *packed red cell*.

Packed red cell merupakan salah satu preparat *transfuse* darah yang telah dihilangkan plasma dan trombositnya. *Packed red cell* dipilih karena hemoglobinnya lebih tinggi dibandingkan *whole blood*. Kadar hemoglobinnya $17,4 \pm 1,2$ g/dl. Sedangkan kadar hemoglobin *whole blood* adalah $13,8 \pm 1,1$ g/dl.¹⁸ Dengan tingginya kadar hemoglobin pada *packed red cell*, diharapkan pada saat eritrosit lisis akibat pemanasan saat pembuatan agar coklat, lebih banyak faktor X (hemin) yang dilepaskan. Hal ini menyebabkan lebih banyak nutrisi yang terkandung di dalam agar coklat, sehingga pertumbuhan *Haemophilus influenza* lebih optimal sebaik pertumbuhannya di agar coklat dari darah domba atau kuda.

2.3 Metode uji sensitivitas antibiotik

2.3.1 Metode difusi

Metode difusi direkomendasikan oleh WHO sebagai metode yang digunakan untuk tujuan klinis dan surveilans karena kesederhanaan teknik dan ketelitiannya.³⁰ Prinsip pengujian sensitivitas antibiotik metode difusi didasarkan pada penghambatan pertumbuhan mikroba oleh antibiotik pada sebuah lempeng agar yang diinokulasi. Pada metode ini inokulum bakteri ditanam secara merata pada permukaan agar. Cakram antibiotik diletakkan pada permukaan agar dan dibiarkan

berdifusi ke dalam media sekitarnya. Hasilnya dilihat diameter zona inhibisi antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri. Zona tersebut terlihat di sekitar cakram antibiotik dan warnanya lebih jernih daripada media di sekitarnya. Ukuran zona tersebut tergantung kepada kecepatan difusi antibiotik, derajat sensitifitas mikroorganisme, dan kecepatan pertumbuhan bakteri. Mikroorganisme dianggap sensitif atau resisten dengan tergantung besar diameter zona inhibisinya. Metode ini direkomendasikan oleh WHO sebagai metode yang digunakan untuk tujuan klinis dan surveilans karena kesederhanaan teknik dan ketelitiannya.¹⁵

2.4 Pemilihan obat untuk uji sensitivitas

Di antara begitu banyak antibiotik yang dapat digunakan untuk mengobati pasien yang terinfeksi oleh bakteri tertentu, hanya sejumlah kecil obat yang dipilih secara cermat yang perlu diikutsertakan dalam uji sensitivitas antibiotik. Pada penelitian ini kami mengacu pada nama-nama antibiotik yang dianjurkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) sebagai antibiotik yang akan diuji kepekaanya. Obat-obat tersebut antara lain amoksisilin-asam klavikulanat, seftriakson, tetrasiklin, kotrimoksazol (trimetoprim-sulfametoksazol), dan kloramfenikol.

2.5 Interpretasi diameter zona inhibisi

Diameter zona inhibisi diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong dalam mm, kemudian hasilnya dibandingkan dengan diameter zona inhibisi standar yang ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan diinterpretasikan sebagai sensitif, resisten, atau intermediet.

Tabel 1. Batas-batas diameter zona inhibisi untuk galur kontrol³¹

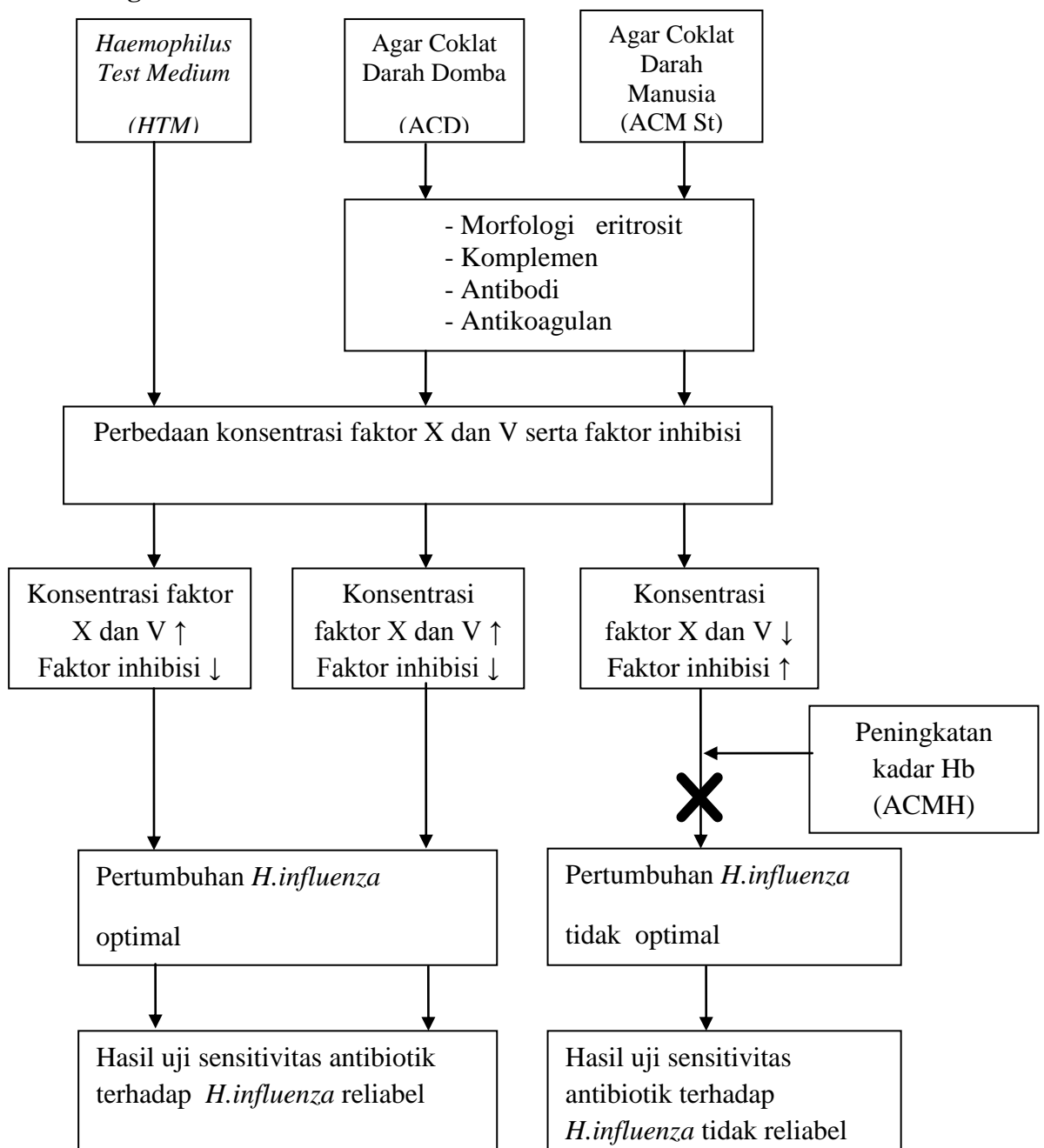
Agen Antibiotik	Diameter Zona Inhibisi (mm)		
	Resisten	Intermediate	Sensitif
1) Amoksisilin-asam klavulanat 20/10 µg	≤19	-	≥20
2) Seftriakson 30 µg	-	-	≥26
3) Tetrasiklin 30 µg	≤25	26-28	≥29
4) Kotrimoksazol (Trimetoprim- sulfametoksazol) 1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16
5) Kloramfenikol 30 µg	≤25	26-28	≥29

BAB III

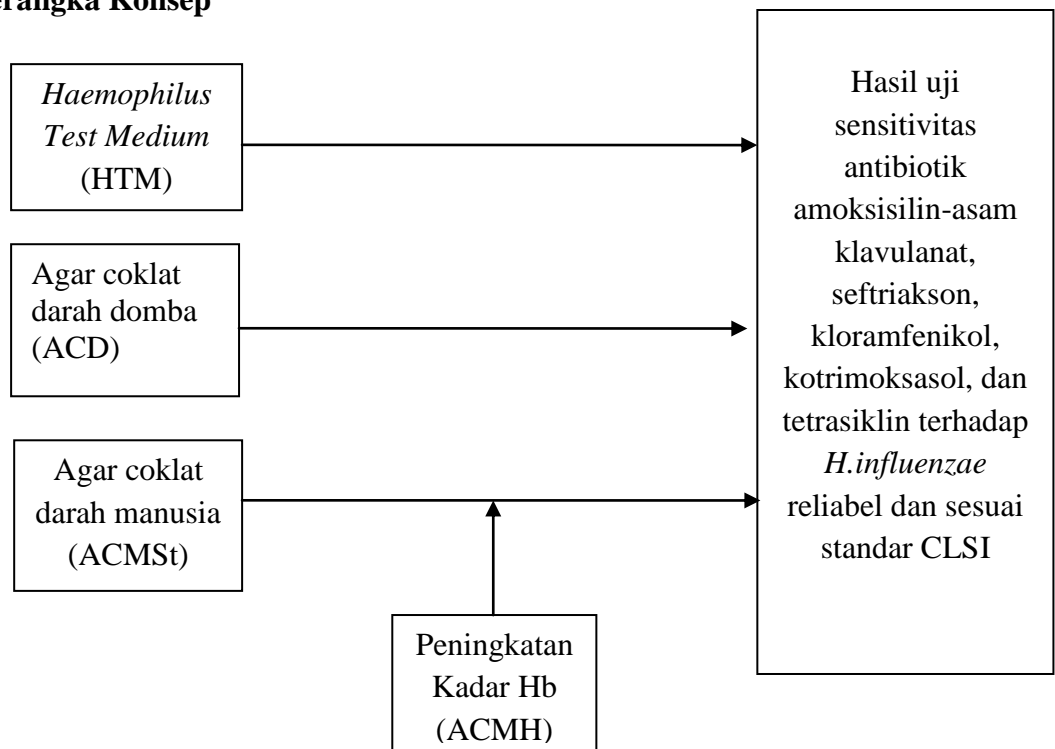
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN

HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis

3.3.1 Hipotesis mayor

Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt dan ACMH dengan HTM.

3.3.2 Hipotesis minor

1. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik amoksisilin-asam klavulanat terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt dan ACMH dengan HTM.

2. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik seftriakson terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt dan ACMH dengan HTM.

3. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik kloramfenikol terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt dan ACMH dengan HTM.

4. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik kotrimoksazol terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt dan ACMH dengan HTM.

5. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada hasil uji sensitivitas antibiotik tetrasiklin terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACMSt dan ACMH dengan HTM.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Ruang lingkup penelitian

4.1.1 Ruang lingkup keilmuan

Ruang lingkup keilmuan dalam penelitian ini adalah bidang ilmu Mikrobiologi Kedokteran.

4.1.2 Ruang lingkup tempat

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

4.1.3 Ruang lingkup waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2012

4.2 Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *True-experimental post test only*.

4.3 Populasi dan sampel

4.3.1 Sampel penelitian

Strain *H. influenzae* ATCC 49247 dan strain dari isolat swab nasofaring orang sehat klinik RSUP dr. Kariadi Semarang yang disimpan dalam media gliserol pada temperatur -80°C . Stok kuman terlebih dulu dipersiapkan secara segar dengan cara ditanam pada media agar coklat dari darah domba.

4.3.1.1 Kriteria inklusi:

Sampel penelitian ini adalah strain *H. influenzae* ATCC 49247 dan strain dari isolat klinik yang tumbuh pada media HTM, agar coklat dari darah domba, dan agar coklat dari darah manusia.

4.3.1.2 Kriteria eksklusi:

Terdapat kontaminasi pada media HTM, agar coklat dari darah domba dan agar coklat dari darah manusia.

4.3.2 Besar replikasi

Dihitung menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan: t = perlakuan

n = ulangan/ replikasi

Karena akan dilakukan 4 perlakuan (t), yaitu :

1. Penanaman pada *Haemophilus Test Medium*
2. Penanaman pada agar coklat dari darah domba disiapkan secara standar (darah defibrinasi, tanpa dicuci)
3. Penanaman pada agar coklat dari darah manusia dari bank darah, disiapkan dengan Hb $13,8 \pm 1,1$ gr/dl
4. Penanaman pada agar coklat dari darah manusia dari bank darah, disiapkan dengan Hb $17,4 \pm 1,2$ gr/dl

Maka perhitungan sampel minimal sebagai berikut :

$$(4-1)(n-1) > 15$$

$$3(n-1) > 15$$

$$n > 6$$

Jadi replikasi minimal yang dibutuhkan untuk tiap perlakuan adalah 7 kali.

4.4 Variabel penelitian

4.4.1 Variabel bebas

Jenis media uji sensititas antibiotik terhadap *H.influenzae*

4.4.2 Variabel terikat

Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenza*

4.4.3 Definisi operasional

Jenis Variabel	Nama Variabel	Skala Data	Definisi Operasional	Nilai
Bebas	Jenis media uji sensitivitas antibiotik terhadap <i>H.influenza</i>	nominal	Jenis bahan dan cara pembuatan media uji sensitivitas antibiotik dengan bahan tersebut	<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>Haemophilus Tes Medium</i> (Mueller-Hinton agar dengan penambahan hematin sapi , NAD, dan ekstrak <i>yeast</i>) pH $7,3 \pm 0,1$ suhu 25°C (HTM) 2. Agar coklat dari darah domba (Mueller-Hinton agar dengan penambahan 5% darah domba yang didefibrinasi dan dipanaskan) ;pH 7.3 ± 0.1 suhu 25°C (ACD) 3. Agar coklat dari darah manusia dari bank darah, disiapkan dengan modifikasi Hb $13,8 \pm 1,1$ gr/dl.; pH 7,3 (ACMSt).¹⁸ 4. Agar coklat dari darah manusia dari bank darah, disiapkan dengan modifikasi Hb $17,4 \pm 1,2$ gr/dl.; pH 7,3(ACMH).¹⁸

Jenis Variabel	Nama Variabel	Skala Data	Definisi Operasional	Nilai
Terikat	Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap <i>H.influenza</i>	nominal	Interpretasi diameter zona inhibisi yang dapat dilihat pada plate ukuran 9 cm dengan <i>Haemophilus influenzae</i> yang diisolasi kemudian diberi cakram antibiotik dan diinkubasi pada suhu 35 °C; 5% CO ₂ (pada sungkup lilin); 18-24jam	<p>*1= Resisten(R)/intermediate(I)</p> <p>#Resisten</p> <p>-amoksisilin-asam klavikulanat20/10µg d ≤19mm</p> <p>- tetrasiklin30µg d≤ 25mm</p> <p>-kotrimoksalol(trimetropim-sulfametoksalol)1,25/23,75µg d≤10mm</p> <p>-kloramfenikol 30µg d≤ 25mm</p> <p>#intermediate:</p> <p>- tetrasiklin30µg d= 26-28 mm</p> <p>-kotrimoksalol(trimetropim-sulfametoksalol)1,25/23,75µg d=11-15mm</p> <p>-kloramfenikol 30µg d=26-28mm</p> <p>*2= sensitif(S)</p> <p>-amoksisilin-asam klavikulanat20/10µg d ≥20mm</p> <p>- seftriakson30µg d≥ 26mm</p> <p>- tetrasiklin30µg d≥ 29mm</p> <p>-kotrimoksalol(trimetropim-sulfametoksalol)1,25/23,75µg d≥16mm</p> <p>-kloramfenikol 30µg d≥ 29mm</p>

4.5 Alat/Materi Penelitian

4.5.1 Alat

- | | |
|----------------------------|----------------------------------|
| 1) Lidi kapas steril | 8) Vortex |
| 2) Osse steril | 9) <i>Glass parell</i> |
| 3) Cawan petri | 10) <i>Autoclave</i> |
| 4) Lampu spiritus | 11) Inkubator |
| 5) korek api | 12) Penjepit steril atau cetakan |
| 6) Jangka sorong/penggaris | cakram antibiotik |
| 7) Tabung reaksi | |

4.5.2 Bahan

- 1) *Haemophilus Tes Medium*
- 2) Darah domba yang didefibrinasi dengan glass parell
- 3) Darah manusia dari PMI/ bank darah
- 4) Kuman *H. influenzae* ATCC 49247
- 5) Kuman *H. influenzae* dari isolat klinik atau dari swab nasofaring
- 6) Standart McFarland 0,5
- 7) Larutan NaCl 0,9 %

4.6 Cara pengumpulan data

4.6.1 Jenis data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yaitu diameter zona inhibisi antibiotik *H. influenzae* pada media uji sensitivitas antibiotik yang diuji. yang kemudian dicocokkan interpretasinya menurut CLSI 2011.

4.6.2 Waktu dan tempat pengumpulan data

Waktu penelitian adalah Maret-Mei 2012 di Laboratorium Mikrobiologi RSUP dr.Kariadi, Semarang.

4.6.3 Cara Kerja

4.6.3.1 Pembuatan media uji sensitivitas antibiotik

4.6.3.1.1 Haemophilus Tes Medium

- 1) *Haemophilus Test Medium Base* sebanyak 21,5gram dituangkan ke dalam 500ml air suling kemudian didihkan sampai larut
- 2) Sterilisasi pada suhu 121⁰C selama 15 menit dalam autoklaf
- 3) Dinginkan sampai 50⁰C kemudian ditambahkan 1 vial *Haemophilus Test Medium Supplement*
- 4) Diaduk sampai homogen kemudian dituangkan ke dalam cawan petri

4.6.3.1.2 Agar coklat dari darah domba (ACD)

- 1) 38,5gram agar Mueller-Hinton dilarutkan dalam 500 ml aquades, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut.
- 2) Media agar disterilkan di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C.
- 3) larutan agar tersebut dicampur darah domba steril dengan prosentase 5% kemudian diaduk hingga homogen.

- 4) Media agar didinginkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri

4.6.3.1.3 Agar coklat dari darah manusia (ACM)

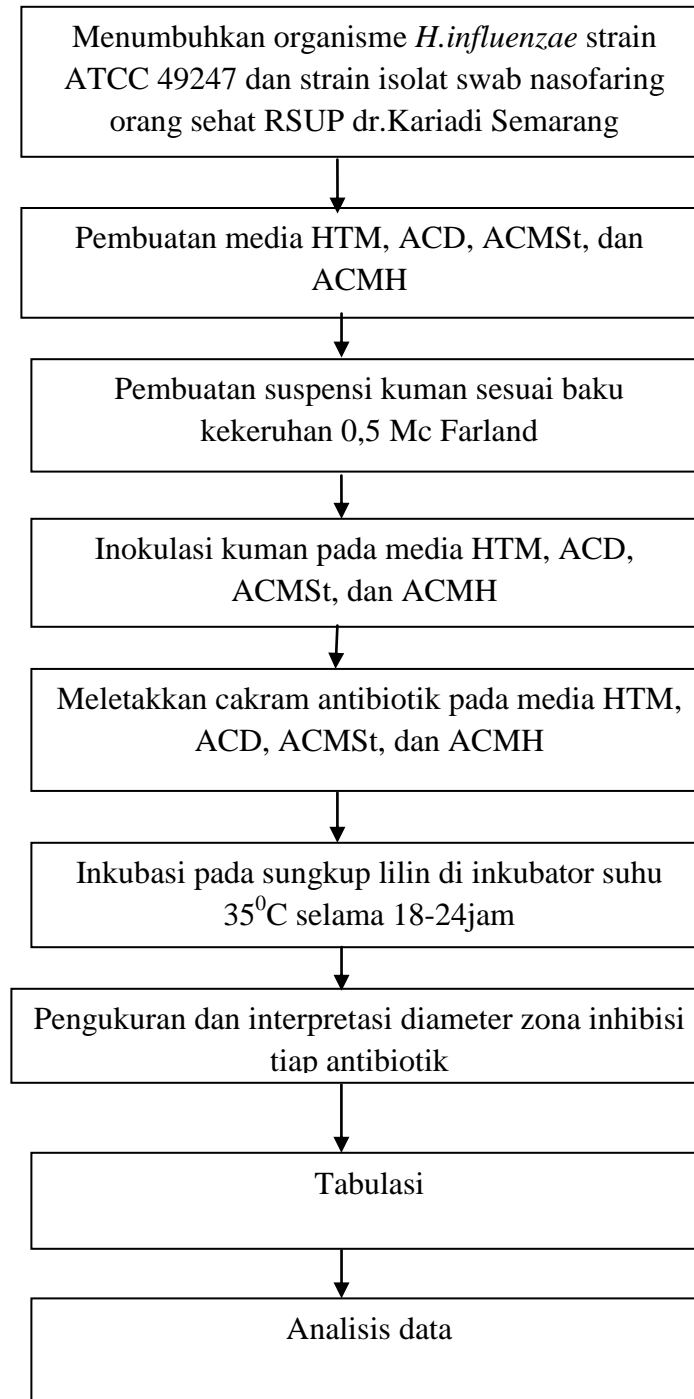
- 1) 38,5 Agar Mueller-Hinton dilarutkan dalam 500ml aquades, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut.
- 2) Media agar disterilkan di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.
- 3) Dinginkan dalam *waterbath* kemudian tuangkan darah manusia steril dengan perbandingan 3-5% lalu diaduk hingga homogen.
- 4) Media agar didinginkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri

4.6.3.1.4 Uji sensitivitas antibiotik

- a. Cara membuat inokulum dari lempeng biakan primer, dengan menggunakan osse steril sentuh puncak dari tiap 3-5 koloni *H.influenzae* yang berukuran sama yang akan diuji
- b. Pindahkan koloni tersebut ke dalam tabung berisi saline
- c. Bandingkan dengan baku kekeruhan standar 0,5 Mc Farland dengan densicheck, atur kepekatan suspensi uji sampai sama dengan larutan baku dengan menambahkan bakteri atau larutan garam fisiologis

- d. Inokulasikan lempeng dengan cara mencelupkan lidi kapas steril ke dalam inokulum. Singkirkan inokulum berlebih dengan menekan dan memutar lidi kapas kuat-kuat pada sisi tabung di atas batas cairan
- e. Swabkan lidi kapas ke seluruh permukaan media tiga kali, dengan memutar lempeng dengan sudut 60° setelah setiap pengolesan. Akhirnya, lewatkan lidi kapas ke sekeliling pingiran permukaan agar.
- f. Biarkan inokulum mengering selama beberapa menit pada suhu ruang dengan cawan tertutup.
- g. Inokulasikan cakram antibiotik ke permukaan agar dengan menggunakan penjepit steril atau cetakan cakram
- h. Tiap cakram harus ditekan perlahan untuk memastikan kontak yang merata dengan media
- i. Media diletakkan dalam sungkup lilin
- j. Sungkup lilin diletakkan dalam inkubator pada suhu 35°C
- k. Setelah inkubasi semalam, diameter tiap zona inhibisi (termasuk diameter cakram) diukur dan dicatat dalam mm

4.7 Alur Penelitian



4.8 Analisis data

Sebelum dilakukan analisis dilakukan *cleaning*, *coding*, tabulasi data dan kemudian data dimasukan kedalam komputer. Hasil pengamatan pada semua variabel tergantung dianalisis dengan menggunakan uji kesesuaian *Kappa* untuk variabel data nominal

Standar nilai *Kappa* untuk dunia kedokteran adalah $k \geq 0,80$ (kesesuaian sangat baik). Analisis data akan menggunakan program SPSS (*Statistical Program for Social Science*) ver 17.0 for Windows.

4.9 Etika penelitian

Sebelum penelitian dilakukan, penelitian akan dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Analisis Sampel

Dalam penelitian ini digunakan sebelas sampel yang telah diisolasi dan ditanam pada media HTM, ACD, ACMSt, dan ACMH. Jumlah sampel yang digunakan telah memenuhi syarat replikasi minimal untuk tiap perlakuan sesuai dengan rumus Frederer yaitu tujuh sampel. Setiap replikasi diulang secara diplo. Kesebelas sampel kuman *H.influenzae* terdiri dari satu strain ATCC (*American Type Culture Collection*) 49247 dan sepuluh strain dari isolat murni *H.influenzae* dari swab nasofaring individu sehat klinik RSUP dr. Kariadi Semarang. Sampel yang digunakan berupa sampel segar yang berumur 18-24 jam.

Hasil uji sensitivas antibiotik terhadap *H.influenzae* berupa diameter zona inhibisi yang akan diinterpretasikan dan dibandingkan dengan diameter zona inhibisi standar yang ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) kemudian diinterpretasikan. Uji hipotesis menggunakan uji kesesuaian *Kappa* untuk menentukan kesesuaian antara media modifikasi dengan media standar (HTM).

5.2 Hasil Penelitian

Uji statistik yang digunakan adalah uji kesesuaian *Kappa*, untuk menentukan kesesuaian antara media modifikasi dengan media standar (HTM).

Tabel 2. Tabel besar nilai *Kappa*

Nilai Kappa	<i>Strength of agreement</i>	
< 0,20	<i>Poor</i>	<i>(slight agreement)</i>
0,21 – 0,41	<i>Fair</i>	<i>(fair agreement)</i>
0,41 – 0,60	<i>Moderate</i>	<i>(moderate agreement)</i>
0,61 – 0,80	<i>Good</i>	<i>(substansial agreement)</i>
0,81 – 0,99	<i>Very good</i>	<i>(almost perfect agreement)</i>

Dalam penelitian ini *agreement* atau kesesuaian nilai uji statistik *Kappa* menunjukkan tingkat kesesuaian serta ketepatan atau presisi media modifikasi sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*.

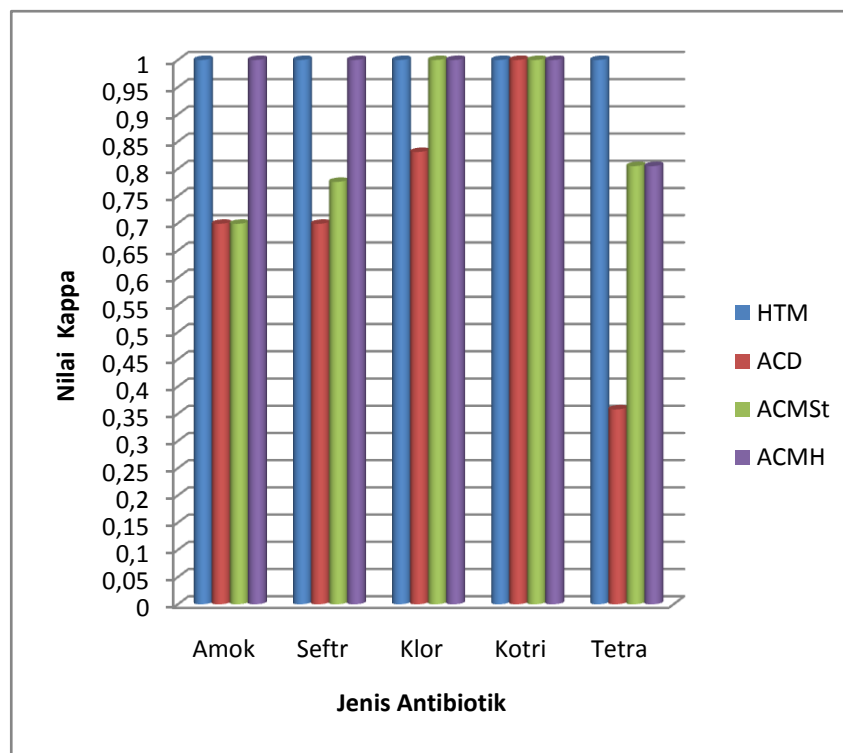
Dalam bidang kedokteran, nilai *Kappa* dari hasil penelitian dapat dikatakan layak apabila mencapai nilai di atas 0,80 (sangat baik).³⁷ Semakin tinggi nilai *Kappa* pada media modifikasi maka semakin sesuai media tersebut dengan media standar uji sensitivitas (HTM).

Tabel3. Data interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik pada media HTM, ACD, ACMSt, dan ACMH

Jenis Antibiotik	Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik berdasarkan CLSI							
	HTM		ACD		ACMSt		ACMH	
	S	R	S	R	S	R	S	R
1) Amoksisilin asam-klavulanat 20/10µg	19	3	17	5	17	5	19	3
2) Seftriakson 30 µg	19	3	17	5	20	2	19	3
3) Kloramfenikol 30 µg	18	4	19	3	18	4	18	4
4) Kotrimokasol(trimetoprim-sulfametoksazol 1,25/23,75 µg	21	1	21	1	21	1	21	1
5) Tetrasiklin 30 µg	15	7	7	15	13	9	13	9

Keterangan: S: Sensitif
R: Resisten dan intermediate

Gambar 4. Grafik nilai *Kappa* berbagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*



Keterangan: Amok : Amoksisilin-asam klavulanat 20/10 µg
Seftr : Seftriakson 30 µg
Klor : Kloramfenikol 30 µg
Kotri : Kotrimokasol (Trimetoprim-sulfametoksazol) 1,25/23,75 µg
Tetra : Tetrasiklin 30 µg

Berdasarkan grafik di atas (lihat gambar 4) mengenai uji kesesuaian *Kappa* antara media modifikasi dengan media standar, didapatkan hasil bahwa media ACD memiliki kesesuaian sangat baik (nilai *Kappa* >0,80) dengan HTM hanya terdapat pada dua antibiotik (40%), yaitu untuk antibiotik kloramfenikol dan kotrimoksazol, sedangkan pada media ACMSt hanya terdapat pada tiga antibiotik (60%), yaitu kloramfenikol, kotrimoksazol, dan tetrasiklin, serta media ACMH terdapat pada semua antibiotik yang ditanam (100%) yaitu amoksisilin asam klavulanat, seftriakson, kloramfenikol, kotrimoksazol, dan tetrasiklin.

BAB VI

PEMBAHASAN

Haemophilus influenzae merupakan bakteri *fastidious* penyebab kematian akibat pneumonia dan meningitis seluruh di dunia. *Haemophilus Test Media* (HTM) merupakan media yang direkomendasikan oleh CLSI sebagai media standar uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae*.²⁰ Bagi negara berkembang seperti Indonesia ketersediaan HTM masih sulit diwujudkan karena tidak efisien dan membutuhkan biaya besar. Penggunaan darah manusia sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae* belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian ini dilakukan dengan membandingkan kesesuaian (*agreement*) hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H. influenzae* pada media ACD, ACMSt, ACMH dengan media standar (HTM).

Pada uji sensitivitas antibiotik dengan metode difusi terdapat beberapa faktor teknis yang mempengaruhi ukuran diameter zona inhibisi, antara lain kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ukuran *plate*, ketebalan media, pengaturan jarak cakram antibiotik, kecepatan difusi antibiotik, derajat sensitivitas mikroorganisme, dan kecepatan pertumbuhan bakteri, dan komposisi media.¹⁵

Pada penelitian ini telah dikontrol semua faktor yang disebutkan di atas supaya sama kecuali komposisi media yang memang dibuat berbeda. Apabila terdapat perbedaan pada salah satu faktor akan mempengaruhi hasilnya karena akan memperbesar atau memperkecil ukuran diameter zona inhibisinya. Karena adanya perbedaan dari komposisi medianya maka hasil yang didapat bisa berbeda dari nilai kekesuaian dari media standar (HTM) dengan media modifikasi.

Perbedaan komposisi dari media mempengaruhi kecepatan difusi antibiotik dan kecepatan pertumbuhan bakteri. Kecepatan difusi antibiotik berkurang dapat dikarenakan media yang terlalu pekat, sehingga zona hambatan akan menunjukkan pengurangan dari ukuran yang seharusnya. Meskipun media ACMH menjadi lebih padat karena adanya penambahan kadar hemoglobin, tetapi ternyata dari penelitian ini difusi antibiotik ke dalam media tetap baik, sehingga hasil uji sensitivitas antibiotik pada ACMH sesuai dengan hasil uji sensitivitas antibiotik pada HTM.

Kecepatan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi untuk menunjang pertumbuhan bakteri tersebut. *H.influenzae* merupakan bakteri yang membutuhkan penambahan faktor X(hemin) dan faktor V(NAD) pada media agar sebagai penyedia nutrisi untuk menunjang pertumbuhannya.¹ Bakteri yang pertumbuhannya baik akan melakukan metabolisme yang optimal, sehingga penyerapan antibiotik dari media juga optimal.

Penelitian Barry AL, dkk (2001) membandingkan performa berbagai macam media, yaitu HTM, agar coklat darah kuda, dan *Mueller Hinton* coklat agar yang

ditambahkan 1% isovitalex dan 1% hemoglobin sebagai media uji sensitivitas terhadap *H.influenzae*. Pertumbuhan bakteri pada media yang ditambahkan nutrisi lebih baik dibandingkan HTM. Namun, diameter zona inhibisi yang terbentuk lebih kecil dibandingkan HTM sebagai media standarnya.

ACD merupakan Mueller Hinton agar yang ditambahkan 5% darah domba. Dalam penelitian ini ACD digunakan sebagai media uji sensitivitas antibiotik *H.influenza* karena ketersediaan faktor X dan faktor V di dalamnya yang merupakan syarat dari media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*. Sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*, kesesuaian ACD dengan media standar (HTM) diperoleh nilai *kappa* yang memenuhi standar kelayakan pada dunia kedokteran ($k > 0,80$) hanya pada 2 dari 5 macam antibiotik yang diuji (40%), yaitu kloramfenikol dan tetrasiklin. Karena ketersediaan nutrisi (faktor X dan V) pada media ACD cukup, maka kemungkinan kecepatan pertumbuhan bakterinya optimal. Faktor lain yang dapat menyebabkan nilai *Kappa* nya kurang adalah kecepatan difusi dari masing-masing antibiotik ke dalam media agar mengalami penurunan. Penambahan darah domba pada Mueller Hinton menyebabkan media uji sensitivitas terhadap *H.influenzae* media menjadi lebih padat, akibatnya kecepatan difusi antibiotiknya menurun. Diameter zona inhibisi yang terbentuk pada ACD lebih kecil daripada diameter zona inhibisi pada media HTM. Hasil yang seharusnya sensitif pada HTM menjadi resisten pada media ACD. Pada media ACD juga terdapat zona pertumbuhan yang samar yang dapat menyebabkan

ketidakakuratan uji sensitivitas. Hal ini menyebabkan media ini belum layak dijadikan sebagai media alternatif pengganti HTM.

ACMSt merupakan Mueller hinton yang ditambahkan dengan darah manusia. Darah manusia merupakan sesuatu yang mudah dan murah didapatkan di Indonesia. Namun, darah manusia dengan Hb standar memiliki kekurangan yaitu masih sedikit ketersediaan nutrisi (faktor X dan V) di dalamnya dan terdapat faktor inhibisi yang menghambat pertumbuhan *H.influenzae* berupa komplemen, antibodi, dan antikoagulan. Komplemen yang bersifat *heat labile* akan inaktif pada suhu 56⁰C, sedangkan antibodi dapat tereliminasi dengan pencucian yang intensif.²⁷ Pada ACMSt hanya dilakukan pemanasan saat melisiskan eritrositnya namun tidak dilakukan pencucian yang intensif.

ACMSt dengan kadar hemoglobin standar menyebabkan bakteri kekurangan akan ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhannya, akibatnya pertumbuhan dari bakteri tidak optimal, sehingga penyerapan antibiotik dari media juga tidak optimal. Kecepatan pertumbuhan bakteri menurun menyebabkan ukuran diameter zona inhibisi pada media ACMSt lebih kecil daripada media standar, sehingga antibiotik yang sensitif pada media standar terlihat resisten pada media ACD. Terlihat dengan membandingkan hasil uji sensitivitas antibiotik antara media ACMSt dengan media standar HTM dan kesesuaian sangat baik hanya 3 dari 5 macam antibiotik (60%) yaitu kloramfenikol, kotrimoksazol, dan tetrasiklin. Hal ini membuat media ACMSt belum layak dijadikan alternatif pengganti media standar HTM.

Pada media ACMH dilakukan penambahan kadar hemoglobin, di mana diharapkan agar saat proses pemanasan banyak eritrosit yang akan lisis. Banyaknya eritrosit yang lisis menyebabkan banyak pula faktor X (hemin) yang didapatkan sebagai salah satu faktor penunjang pertumbuhan dari *H.influenzae*. Bakteri cukup akan kebutuhan nutrisinya sehingga untuk pertumbuhan dan metabolismenya optimal. Kecepatan pertumbuhan bakteri pada media ACMH menjadi optimal pula. Nutrisi yang cukup membuat ACMH memiliki performa yang lebih baik daripada media ACMSt dan ACD. Terlihat dari hasil uji sensitivitas semua antibiotik (100%) yang diuji pada media ACMH dengan HTM memiliki nilai kesesuaian yang sangat baik sesuai standar nilai kappa yang layak untuk dunia kedokteran ($k > 0,80$).

Penambahan darah manusia pada Mueller Hinton agar menyebabkan media ACMH menjadi lebih padat. Selain kepadatan media, kecepatan difusi dari obat ke dalam media juga mempengaruhi hasil dari uji sensitivitas antibiotik. Namun, hasil kesesuaiannya dengan HTM masih sangat baik, menunjukkan bahwa tidak ada penurunan kecepatan difusi antibiotik pada media ini. pada *H.influenzae*. Kecepatan difusi obat pada media berbanding lurus dengan derajat kelarutan lemak molekul obat.³⁶ Pada membran eritrosit terdapat senyawa berupa lemak yaitu sfingomyelin. Untuk obat yang bersifat lipofilik, ikatan proteinnya kuat.³⁶ Di dalam hemoglobin terdapat protein yang berupa globin. ACMH memiliki lebih banyak protein daripada darah domba karena jumlah hemoglobin yang lebih banyak. Derajat kelarutan lemak dan ikatan protein molekul obat pada ACMH lebih tinggi daripada ACD sehingga

kecepatan difusi obatnya lebih baik daripada ACD. Dengan terpenuhinya syarat kesesuaian minimum ($k > 0,8$) maka ACMH memiliki keandalan yang cukup, sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*

Media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* yang murah dan mudah didapat diperlukan untuk negara berkembang seperti Indonesia, berikut adalah tabel perbandingan dari berbagai macam media yang digunakan dalam penelitian ini.

Tabel 4. Perbandingan harga media HTM, ACD, ACMH untuk tiap *plate*

HTM	ACD	ACMH
HTM Agar = Rp 4.300,-	MH Agar = Rp 2.700,-	MH Agar = Rp 2.700,-
Suplemen =Rp 8.400,-	5% Darah Domba = Rp 3.300,-	5% Darah Manusia = Rp 0,-
Biaya Impor =2.900		
Total = Rp 15.600,-	Total = Rp 6.000,-	Total = Rp 2.700,-

ACMH memenuhi kriteria media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* yang murah dan mudah didapat, sehingga layak dijadikan sebagai media alternatif untuk menggantikan *Haemophilus Test Media* (HTM) pada laboratorium dengan keterbatasan sumber dana.

Beberapa penelitian membandingkan langsung antara HTM dengan media modifikasi sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*. Scriver, dkk (1992) membandingkan secara langsung antar HTM dengan agar coklat darah kuda. Hasil dari penelitian ini menyebutkan bahwa peneliti lebih merekomendasikan penggunaan HTM dibanding dengan agar coklat darah kuda. Tidak adanya

penelitian lain tentang agar coklat darah manusia sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* menyebabkan penelitian tentang modifikasi agar coklat darah manusia sebagai media uji sensitivitas terhadap *H.influenzae* tidak bisa dibandingkan dengan penelitian lainnya.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ACD dan ACMSt tidak memiliki keandalan yang cukup sehingga tidak layak digunakan sebagai media alternatif uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*. ACMH memiliki keandalan yang cukup dan harganya ekonomis sehingga layak digunakan sebagai alternatif media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*

BAB VII

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

1. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada 40% hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* pada media agar cokelat darah domba(ACD) dengan media standar (HTM)
2. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada 60% hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* pada media agar cokelat darah manusia dengan Hb standar (ACMSt) dengan media standar (HTM)
3. Terdapat kesesuaian yang sangat baik pada 100% hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* pada media agar cokelat darah manusia dengan peningkatan kadar hemoglobin (ACMH) dengan media standar (HTM)
4. Media agar cokelat darah manusia dengan peningkatan kadar hemoglobin (ACMH) lebih ekonomis jika dibandingkan dengan *Haemophilus Test Media* (HTM) dan agar cokelat darah domba (ACD).
5. Media agar cokelat darah manusia dengan peningkatan kadar hemoglobin (ACMH) memiliki keandalan yang cukup dan harganya ekonomis, sehingga dapat digunakan sebagai media alternatif untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenza*

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap jenis antibiotik yang lain agar media ini dapat dijadikan sebagai media alternatif uji sensitivitas antibiotik semua jenis dan dapat diproduksi secara komersial.
2. Karena kemudahan dalam pengadaan bahan serta pembuatan media ACMH sebagai media alternatif uji sensitivitas, diharapkan uji standar rutin terhadap *Haemophilus influenza* dapat dilakukan di laboratorium dengan keterbatasan sumber dana, mengingat *Haemophilus influenza* merupakan patogen yang penting.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jawetz, Melnik, Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23. Jakarta: EGC; 2007.
2. Mark A. Herbert, E. Richard Moxon, Derek W. Hood. editor. Method in molecular medicine: *Haemophilus influenzae* protocol; 71(2)
3. Adams WG, Deaver KA, Cochi SL, et al. Decline of childhood *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease in the Hib vaccine era. JAMA. 1993; 269:221–6.
4. Kementrian Kesehatan RI. Jakarta (Indonesia) : Jendela Epidemiologi 2010
5. Mansjoer, Arif, dkk. Kapita Selekta Kedokteran, Edisi Jilid II. Jakarta: Media Aeskulapius FKUI; 2000
6. World Health Organization. Estimated Hib and pneumococcal deaths for children under 5 years of age [Internet]. c2012 [updated 2011 Feb 7; cited 2012 Feb 4]. Available from: http://www.who.int/immunization_monitoring/burden/Pneumo_hib_estimates/en/index1.html
7. Generic protocol for population-based surveillance of *Haemophilus influenzae* type b. World Health Organization. 1997. WHO/VRD/GEN/95.05.
8. Council of State and Territorial Epidemiologists. Public Health Reporting and National Notification for invasive *Haemophilus influenzae* type b (Hib) Infection. Position Statement 09-ID-33. Available at <http://www.cste.org/ps2009/09-ID-33.pdf>
9. Rebecca Buxton. Sputum-Gram-Negative Diplococci Coccobacilli. Washington DC: American Society for Microbiology [Internet]. c2010 [updated 2011 Oct 28; cited 2012 Feb 5]. Available from: <http://aboutthealt-h.com/haemophilus-influenzae-infection>

10. Puri J, Talwar V, Juneja M, Agarwal KN, Gupta HC. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory isolates of *Haemophilus influenzae*. *Indian Pedriatic* 36(10):1029-32;1999
11. Lysenko E, Ratner A, Nelson A, Weiser J (2005). "The role of innate immune responses in the outcome of interspecies competition for colonization of mucosal surfaces". *PLoS Pathog* 1 (1): e1. doi:10.1371/journal.ppat.0010001
12. Murray Robert K., Granner Daryl K., Mayes Peter A. Rodwel Victor w. *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC;2003
13. Todar K. Todar's Online Textbook of Bacteriology. Haemophilus and Hib meningitis [Internet]. [cited 2012 Feb 5]. Available from: <http://textbookofbacteriology.net/haemophilus.html>
14. Washington C. Winn, Elmer W. Koneman. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology* : 455
15. J. Vandepitte, J. Verhaegen, et al. *Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology*, Ed.2. Jakarta: EGC; 2010.
16. Mueller Hinton Agar (M-H Agar). Page 144-145 . [Internet]. [cited 2012 Feb 5]. Available from: http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/Usage/70191_2_mueller_hinton_agar_broth.Par.0001.File.tmp/70191_2_mueller_hinton_agar_broth.pdf
17. Asmausco Pharma, Co., Ltd. Growth Medium Manufactures: Mueller Hinton Plates [Internet]. Switzerland and China. c2009 [cited 2012 Feb 4] .Available from: <http://www.growth-medium.com/Product/298/>
18. ABO. Mueller-Hinton Broth [Internet]. Switzerland. c2009 [cited 2012 Feb 4]. Available from: http://www.cellular-products.com/Cell-Biology/page_2.html
19. James H Jorgensen, Judith S. Redding. Louise A Maher, dan Anne W. Howell. Improved Medium for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Haemophilus influenzae*; 1987.

- 1 20. Clinical and Laboratory Standards Institute, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, M100-S16 Vol.26, No. 3, CLSI, Villanova, Pa.; 2007.
- 2 21. Becton, Dickinson, and Company. Haemophilus Test Medium [Internet]. Maryland(USA): BD; c2007[updated 2007 Feb 6; cited 2012 Feb 5]. Available from:
<http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/L007380%2806%29%280207%29.pdf>
22. Nash, P., and M.M. Krenz. Culture media. *In*: Manual of clinical microbiology, (Balows, A., et al., eds.). 5th edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
23. Becton, Dickinson and Company. Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood [Internet]. Maryland(USA): BD; c2006 [updated 2006 Apr 3; cited 2012 Feb 5]. Available at:
[http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L007394\(03\)\(0406\).pdf](http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L007394(03)(0406).pdf)
24. Carolina World Class Support for Science and Math. Blood Agar Plates [Internet]. North Carolina (USA): Carolina Biological Supply Company; 2012[cited 2012 Feb 4] Available from:
<http://www.carolina.com/product/living+organisms/biological+media/prepare+d+media+plates/anaerobe+blood+agar,+prepared+media+plates+100+x+15+mm,+pack+10.do>
25. Labplanet. BD Mueller Hinton Agar 25 LB. 212257[Internet]..Northbrook(Illionis). c2010-2012 [cited 2012 Feb 4] .Available from: <http://www.labplanet.com/bd-mueller-hinton-agar-25-lb-212257.html>

26. EJ Brown, J Ramsey, CH Hammer, MM Frank. Surface Modulation of Convertase Formation and Regulation on Sheep, Guinea Pig, and Human Erythrocytes. *The Journal of Immunology*. 1983; 131(1): 403-408 .
27. Jurnal Sains Kimia (Journal of Chemical Science) volume 7, nomor 2:44:50. Universitas Sumatra Utara; 2003.
28. Anderson P, Johnston RB, Smith DH. Human Serum Activities Against *Haemophilus influenzae Type b*. *The Journal of Clinical Investigation* 1972; 51:31-8
29. T. Brune, K. Hannemann-Pohl, K. Nible, N.Ecker, and H. Garritsen. 2009. Quality, Stability, and Safety Data of Packed Red Cell and Plasma Processed by Gravity Separation Using a New Fully Integrated Hollow-Fibre Filter Device. *Adv Hematol*. 2009; 2009:175234. Epub 2010 Feb 4
30. Vandepitte, J. Verhaegen, et al. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis Ed.2*. Jakarta:EGC;2010
31. Clinical and Laboratory Standards Institute, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, M100-S16 Vol.26, No. 3, CLSI, Villanova, Pa.; 2007.
32. Elma Krumwiede and Ann G.Kuttner, M.d. *A Growth Inhibitory Substance for The Influenzae Group Of Organism In The Blood of Various Animal Species The Use Of The Blood of Various Animals As A Selective Medium For Detection Of Hemolytic Streptococci In Throat Cultures*. Irvlgnlon House, Irvlgnlon-On-Hudson,;New York;1973
33. John R. Warren. *Haemophilus* and The HACEK Organisms Department of Pathology Northwestern University Feinberg School of Medicine. June 2007 [cited 7 Juli 2012]
34. M.P.E Slack. *Haemophilus Respiratory infection, meningitis, canchroid*. Bacterial Pathogen Associated Disease [cited 7 Juli 2012] available from: www.us.elsevierhealth.com

35. Yeh, E, Pinsky BA, et al. *Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Test.* PloS One. 2009 Jul 3;4(7):e6141
36. Syarif Amir, Estuningtyas. Ari, dkk. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5.* Jakarta: Balai penerbit FK UI. 2009
37. Cohen J. *Weighted Kappa: Nominal Scale Agreement with Provision for Scaled Dissagreement or Partial Credit.* Psychological Bulletin. 70: 213-20. 1968



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG
 Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3
 Jl. Dr. Soefomo 18. Semarang
 Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905



ETHICAL CLEARANCE
No. 271/EC/FK/RSDK/2012

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah USULAN Penelitian :

Peneliti I	: Radith Aulia
Judul Penelitian	: Pengaruh Pencucian Eritrosit secara Intensif dan Penambahan Kadar Hemoglobin pada Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Alternatif Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap <i>Haemophilus influenzae</i>
Peneliti II	: Duta Indriawan
Judul Penelitian	: Pengaruh Pencucian Eritrosit secara Intensif pada Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Alternatif Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap <i>Haemophilus influenzae</i>
Peneliti III	: Anisa Rizka
Judul Penelitian	: Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia dengan Peningkatan Kadar Hemoglobin sebagai Media Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap <i>Haemophilus influenzae</i>
Penelitian	: Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FK Undip
Pembimbing	: dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A

Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2004.

Peneliti harus melampirkan 2 kopi lembar Informed consent yang telah disetujui dan ditandatangani oleh peserta penelitian pada laporan penelitian.

Fakultas Kedokteran Undip
 Dekan

dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K)
 NIP. 19560806 198503 2 001

Semarang, 27 Juli 2012
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan
 Fakultas Kedokteran Undip/RS. Dr. Kariadi
 Sekretaris

Prof. dr. Siti Fatimah Muis, M.Sc, Sp.GK
 NIP. 13036806700

LAMPIRAN 2

Spreadsheet Data

1. Diameter zona inhibisi antibiotik amoksisilin-asam klavulanat 20/10 μ g

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Amoksisilin-asam klavulanat pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Amoksisilin-asam klavulanat berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACMSt	ACMH	HTM	ACD	ACMSt	ACMH
Atcc	19.00	19.00	19.00	19.00	resisten	resisten	resisten	resisten
Atcc	20.00	16.00	15.00	20.00	sensitif	resisten	resisten	sensitif
c171	25.00	28.00	20.00	27.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	28.00	20.00	24.00	22.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	29.00	27.00	24.00	20.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	32.00	24.00	26.00	23.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	40.00	32.00	31.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	35.00	40.00	30.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	29.00	25.00	25.00	23.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	27.00	23.00	23.00	29.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	35.00	30.00	28.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	37.00	29.00	29.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	24.00	22.00	24.00	20.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	22.00	25.00	22.00	23.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	30.00	24.00	26.00	29.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	24.00	24.00	27.00	29.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	36.00	35.00	30.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	36.00	35.00	33.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	21.00	20.00	19.00	21.00	sensitif	sensitif	resisten	sensitif
c128	21.00	19.00	22.00	20.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c241	19.00	17.00	17.00	18.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	19.00	17.00	17.00	18.00	resisten	resisten	resisten	resisten

2. Diameter zona inhibisi antibiotik seftriakson 30 μ g

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Seftriakson pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Seftriakson berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACMSt	ACMH	HTM	ACD	ACMSt	ACMH
Atcc	33.00	23.00	35.00	40.00	sensitif	Resisten	sensitif	sensitif
Atcc	33.00	25.00	30.00	35.00	sensitif	Resisten	sensitif	sensitif
c171	28.00	30.00	26.00	27.50	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c171	25.00	22.00	32.00	25.00	resisten	Resisten	sensitif	resisten
c104	41.00	30.00	31.00	31.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c104	40.00	30.00	31.00	27.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c173	45.00	45.00	42.00	45.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c173	46.00	45.00	40.00	44.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c120	35.00	32.00	32.00	34.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c120	34.00	32.00	30.00	31.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c086	42.00	37.00	39.00	41.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c086	40.00	38.00	41.00	42.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c070	28.00	28.00	32.00	28.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c070	27.00	31.00	32.00	35.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c141	31.00	32.00	32.00	33.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c141	30.00	32.00	35.00	35.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c107	46.00	34.00	34.00	40.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c107	46.00	35.00	37.00	39.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c128	36.00	37.00	34.00	35.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c128	34.00	34.00	37.00	35.00	sensitif	Sensitif	sensitif	sensitif
c241	25.00	23.00	21.00	25.00	resisten	Resisten	resisten	resisten
c241	25.00	22.00	24.00	24.00	resisten	Resisten	resisten	resisten

3. Diameter zona inhibisi antibiotik kloramfenikol 30 μ g

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Kloramfenikol pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Kloramfenikol berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACMSt	ACMH	HTM	ACD	ACMSt	ACMH
Atcc	37.00	30.00	35.00	40.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
Atcc	36.00	32.00	30.00	37.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	37.00	31.00	33.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	40.00	35.00	36.00	37.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	43.00	35.00	34.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	38.00	34.00	34.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	40.00	38.00	36.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	40.00	33.00	35.00	37.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	28.00	30.00	25.00	26.00	resisten	sensitif	resisten	resisten
c120	26.00	22.00	26.00	22.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c086	35.00	38.00	38.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	41.00	36.00	37.00	37.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	27.00	25.00	28.00	23.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c070	25.00	27.00	25.00	27.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c141	33.00	32.00	30.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	34.00	32.00	30.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	41.00	34.00	36.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	40.00	36.00	38.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	41.00	36.00	38.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	42.00	35.00	40.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	40.00	34.00	34.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	40.00	33.00	32.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif

4. Diameter zona inhibisi antibiotik kotrimoksazol (trimetoprim-sulfametoksazol)

1,25/23,75 µg

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Kotrimoksazol pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Kotrimoksazol berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACMSt	ACMH	HTM	ACD	ACMSt	ACMH
atcc	32.00	30.00	35.00	40.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
atcc	15.00	15.00	15.00	15.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c171	29.00	26.00	30.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	29.00	21.00	34.00	25.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	32.00	32.00	29.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	38.00	26.00	27.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	38.00	39.00	38.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	38.00	40.00	38.00	40.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	33.00	31.00	33.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	32.00	32.00	32.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	37.00	36.00	37.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	38.00	37.00	38.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	31.00	31.00	33.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	28.00	32.00	30.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	32.00	32.00	34.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	30.00	34.00	35.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	40.00	40.00	38.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	37.00	39.00	35.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	36.00	36.00	21.00	23.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	37.00	25.00	37.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	16.00	16.00	22.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	16.00	34.00	34.00	17.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif

5. Diameter zona inhibisi antibiotik tetrasiklin 30 μ g

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik tetrasiklin pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Tetrasiklin berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACMSt	ACMH	HTM	ACD	ACMSt	ACMH
atcc	19.00	18.00	17.00	20.00	resisten	resisten	resisten	resisten
atcc	20.00	15.00	18.00	19.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c171	31.00	29.00	30.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	34.00	27.00	34.00	33.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c104	38.00	29.00	29.00	28.00	sensitif	sensitif	sensitif	resisten
c104	35.00	27.00	30.00	30.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c173	34.00	34.00	32.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	32.00	31.00	29.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	31.00	28.00	30.00	39.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c120	32.00	28.00	29.00	31.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c086	36.00	28.00	32.00	30.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c086	37.00	36.00	31.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	30.00	26.00	26.00	25.00	sensitif	resisten	resisten	resisten
c070	27.00	27.00	27.00	26.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c141	29.00	25.00	26.00	29.00	sensitif	resisten	resisten	sensitif
c141	29.00	25.00	30.00	36.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c107	36.00	30.00	32.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	36.00	33.00	34.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	18.00	18.00	17.00	17.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c128	20.00	17.00	21.00	15.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	17.00	16.00	17.00	16.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	18.00	16.00	20.00	16.00	resisten	resisten	resisten	Resisten

LAMPIRAN 3

HASIL ANALISA DATA

Uji hipotesis hasil uji sensitivitas antibiotik media standar dan modifikasi (Kappa)

1. Antibiotik Amoksisilin-asam klavulanat

Amoksisilin Asam Klavulanat HTM dan ACD

crosstab

Count

		amocl_acd_ord		Total
		resisten	sensitif	
amocl_htm_ord	resisten	3	0	3
	sensitif	2	17	19
Total		5	17	22

Amoksisilin Asam Klavulanat HTM dan ACD

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.699	.194	3.437	.001
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

a. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Amoksisilin Asam klavulanat HTM-ACMSt

crosstab

Count

		amocl_acm_ord		Total
		resisten	sensitif	
amocl_htm_ord	resisten	3	0	3
	sensitif	2	17	19
Total		5	17	22

Amoksisilin Asam klavulanat HTM-ACMSt

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.699	.194	3.437	.001
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Amoksisilin asam klavulanat HTM-ACMH

Crosstab

Count

		amocl_acmHb_ord		Total
		resisten	sensitif	
amocl_htm_ord	resisten	3	0	3
	sensitif	0	19	19
Total		3	19	22

Amoksisilin asam klavulanat HTM-ACMH

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

2. Seftriakson

Seftriakson HTM-ACD

Crosstab

Count

		seft_acd_ord		Total
		resisten	sensitif	
seft_htm_ord	resisten	3	0	3
	sensitif	2	17	19
Total		5	17	22

Seftriakson HTM-ACD

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.699	.194	3.437	.001
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Seftriakson HTM-ACM

Crosstab

Count

		seft_acm_ord		Total
		resisten	sensitif	
seft_htm_ord	resisten	2	1	3
	sensitif	0	19	19
Total		2	20	22

Seftriakson HTM-ACM

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.776	.214	3.733	.000
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Seftriakson HTM-ACMH

Crosstab

Count

		seft_acmHb_ord		Total
		resisten	sensitif	
seft_htm_ord	resisten	3	0	3
	sensitif	0	19	19
Total		3	19	22

Seftriakson HTM-ACMH

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

Seftriakson HTM-ACMH

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

3. Kloramfenikol

Kloramfenikol HTM-ACD

Crosstab

Count

		klor_acd_ord		Total
		resisten	sensitif	
klor_htm_ord	resisten	3	1	4
	sensitif	0	18	18
Total		3	19	22

Kloramfenikol HTM-ACD

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.831	.163	3.954	.000
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Kloramfenikol HTM-ACM

Crosstab

Count

		klor_acm_ord		Total
		resisten	sensitif	
klor_htm_ord	resisten	4	0	4
	sensitif	0	18	18
Total		4	18	22

Kloramfenikol HTM-ACM

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Kloramfenikol HTM-ACMH

Crosstab

Count

		klor_acmHb_ord		Total
		resisten	sensitif	
klor_htm_ord	resisten	4	0	4
	sensitif	0	18	18
Total		4	18	22

Kloramfenikol HTM-ACMH

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases		22			

- a. Not assuming the null hypothesis.
 b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

4. Kotrimoksasol

Kotrimoksasol HTM-ACD

Crosstab

Count

		kotri_acd_ord		Total
		resisten	sensitif	
kotri_htm_ord	resisten	1	0	1
	sensitif	0	21	21
Total		1	21	22

Kotrimoksasol HTM-ACD

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases		22			

- a. Not assuming the null hypothesis.
 b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Kotrimoksasol HTM-ACM

Crosstab

Count

		kotri_acm_ord		Total
		resisten	sensitif	
kotri_htm_ord	resisten	1	0	1
	sensitif	0	21	21
Total		1	21	22

Kotrimoksasol HTM-ACM**Symmetric Measures**

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases	22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Kotrimoksasol HTM-ACMH**Crosstab**

Count

		kotri_acmHb_ord		Total
		resisten	sensitif	
kotri_htm_ord	resisten	1	0	1
	sensitif	0	21	21
Total		1	21	22

Kotrimoksasol HTM-ACMH**Symmetric Measures**

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	1.000	.000	4.690	.000
N of Valid Cases	22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

5. Tetrasiklin

Tetrasiklin HTM-ACD

Crosstab

Count

		tetra_acd_ord		Total
		resisten	sensitif	
tetra_htm_ord	resisten	7	0	7
	sensitif	8	7	15
Total		15	7	22

Tetrasiklin HTM-ACD

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.358	.139	2.189	.029
N of Valid Cases		22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Tetrasikli HTM-ACM

Crosstab

Count

		tetra_acm_ord		Total
		resisten	sensitif	
tetra_htm_ord	resisten	7	0	7
	sensitif	2	13	15
Total		9	13	22

Tetrasiklin HTM-ACM
Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	.805	.129	3.851	.000
N of Valid Cases	22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Tetrasiklin HTM-ACMH
Crosstab

Count

		tetra_acmHb_ord		Total
		resisten	sensitif	
tetra_htm_ord	resisten	7	0	7
	sensitif	2	13	15
Total		9	13	22

Tetrasiklin HTM-ACMH
Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	.805	.129	3.851	.000
N of Valid Cases	22			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

LAMPIRAN 4

DOKUMENTASI PENELITIAN



Menumbuhkan *H.influenzae* 1strain ATCC 49247 dan 10strain isolat swab nasofaring orang sehat RSUP dr.Kariadi Semarang



Pembuatan media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* HTM, ACD, ACMSt, dan ACMH



Inokulasi kuman pada media HTM, ACD, ACMSt, dan ACMH



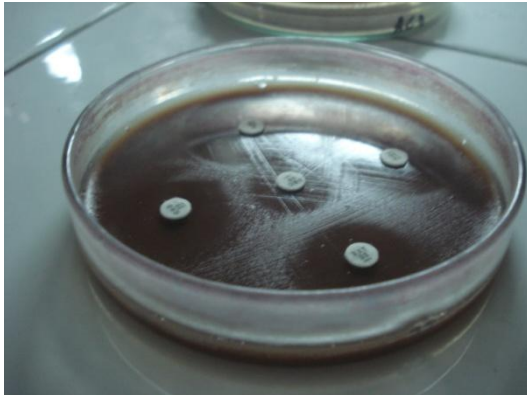
Meletakkan cakram antibiotik pada media HTM, ACD, ACMSt, dan ACMH



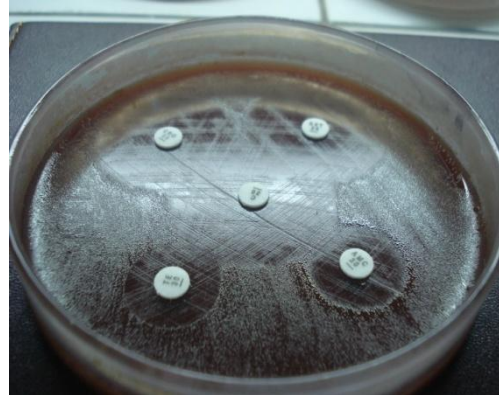
Inkubasi media pada sungkup lilin pada inkubator 35°C selama 18-24jam



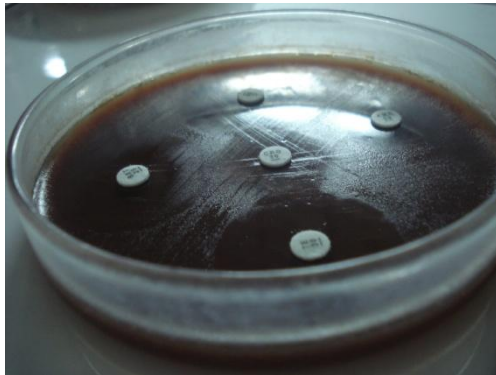
Hasil uji sensitivitas antibiotik pada media HTM



Hasil uji sensitivias antibiotik pada media ACD



Hasil uji sensitivias antibiotik pada media ACMSt



Hasil uji sensitivias antibiotik pada media ACMH

LAMPIRAN 5**Identitas**

Nama : Anisa Rizka
 NIM : G2A008025
 Tempat/tanggal lahir : Kediri, 18 Januari 1990
 Jenis kelamin : perempuan
 Alamat : Jl. Mugas Barat IX/12 Semarang
 Nomor Telepon : -
 Nomor HP : 085735118748
 e-mail : anisa.rizka@gmail.com

Riwayat Pendidikan Formal

- | | |
|--------------------------------|------------------|
| 1. SD : SDN Burengan II Kediri | Lulus tahun:2002 |
| 2. SMP : SMPN 1 Kediri | Lulus tahun:2005 |
| 3. SMA :SMAN 2 Kediri | Lulus tahun:2008 |

Keanggotaan Organisasi

- | | |
|----------------------------------|---------------------|
| 1. Departemen RISET BEM FK UNDIP | Tahun 2008 s/d 2009 |
|----------------------------------|---------------------|

Pengalaman penelitian

-

Pengalaman publikasi tulisan ilmiah

-

Pengalaman presentasi karya ilmiah

1. Nama: Anisa Rizka JUDUL: Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia sebagai Alternatif Media Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae* . Forum: Lomba PKMP DIKTI.Tahun 2012.Cara presentasi oral

Pengalaman mengikuti lomba karya ilmiah

1. Nama Peneliti : Anisa Rizka, Duta Indriawan, dan Radith Aulia.
 JUDUL : Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia sebagai Alternatif Media Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae*
 Penyelenggara: DIKTI
 Prestasi :penelitian didanai