



**OPTIMALISASI AGAR COKLAT DARAH MANUSIA  
SEBAGAI MEDIA UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK  
TERHADAP *Haemophilus influenzae* :  
PERAN *PACKED RED CELL* DAN PENCUCIAN ERITROSIT  
SEBANYAK EMPAT KALI**

**LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN  
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian hasil Karya Tulis Ilmiah  
mahasiswa program strata-1 kedokteran umum**

**RADITH AULIA  
G2A008148**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2012**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN KTI**

**OPTIMALISASI AGAR COKLAT DARAH MANUSIA SEBAGAI MEDIA  
UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK TERHADAP *Haemophilus influenzae* :  
PERAN *PACKED RED CELL* DAN PENCUCIAN ERITROSIT  
SEBANYAK EMPAT KALI**

Disusun oleh

**RADITH AULIA  
G2A008148**

Telah disetujui

Semarang, 8 Agustus 2012

Penguji

Pembimbing

**Dr. Endang Sri Lestari, PhD  
19661016 199702 2 001**

**dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A  
19661213 200112 2 001**

Ketua Penguji

**Dr. Subakir, Sp.MK, Sp.KK(K)**

## PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan ini,

Nama : Radith Aulia

NIM : G2A008148

Alamat : Jalan Menoreh Utara XII no 9 Sampangan, Semarang

Program studi : Program Pendidikan Sarjana Program Studi Pendidikan Dokter  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Judul KTI : Pengaruh Pencucian Eritrosit Secara Intensif dan Penambahan  
Kadar Hemoglobin pada Agar Coklat Darah Manusia Sebagai  
Media Alternatif Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap  
*Haemophilus infleunzae*

Dengan ini menyatakan bahwa,

- 1) Karya tulis ilmiah saya ini adalah asli dan belum pernah dipublikasi atau diajukan untuk mendapatkan gelar akademik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- 2) Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan orang lain, kecuali pembimbing dan pihak lain sepengetahuan pembimbing
- 3) Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.

Semarang  
Yang membuat pernyataan,

Radith Aulia

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya kami dapat menyelesaikan tugas Karya Tulis Ilmiah yang berjudul Pengaruh Pencucian Eritrosit Secara Intensif dan Penambahan Kadar Hemoglobin pada Agar Coklat Darah Manusia Sebagai Media Alternatif Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae*. 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. Kementrian Pendidikan Nasional Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (DIKTI) yang telah memberikan dana untuk melakukan penelitian ini.
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 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. Bagian Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
6. Bapak Seno selaku laborat yang telah meluangkan waktu untuk membantu dan membimbing kami dalam pembuatan media agar sebagai bahan penelitian.

7. Jajaran staf mikrobiologi kedokteran yang telah meluangkan waktu untuk mendampingi kami selama proses penelitian berlangsung.
8. Pimpinan dan civitas akademika Fakultas Kedokteran UNDIP, terimakasih atas bantuan untuk membuat surat- surat perizinan dalam proses penelitian.
9. Kedua orang tua dan adik beserta keluarga kami yang senantiasa memberikan doa dan dukungan.
10. Nurin Aisyiyah Listyasari yang senantiasa memberikan semangat, dukungan, serta doa dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
11. Anisa Rizka dan Duta Indriawan yang telah membantu dan bekerja bersama dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
12. Para sahabat yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah Ini.
13. 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

Kami menyadari bahwa naskah karya tulis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik serta saran yang membangun sangat kami harapkan. Semoga apa yang tertulis dalam naskah ini mampu menunjang kemajuan dalam bidang ilmu kedokteran dan memberikan manfaat bagi kita semua. Akhirnya, semoga Allah senantiasa memberikan berkat dan rahmat yang berlimpah bagi kita semua.

Semarang, 8 Agustus 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
ABSTRAK .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Permasalahan penelitian.....	3
1.3 Tujuan penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum .....	4
1.3.2 Tujuan khusus .....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	5
1.5 Keaslian penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Identifikasi Variabel.....	8
2.1.1 <i>Haemophilus influenzae</i> .....	8
2.1.2 Metode uji sensitivitas antibiotik .....	12
2.1.2.1 Metode difusi .....	12
2.1.2.2 Metode dilusi.....	12
2.1.3 Media uji sensitivitas.....	13
2.1.3.1 <i>Mueller Hinton</i> agar .....	13
2.1.3.2 <i>Haemophilus Test Media</i> (HTM).....	15

2.1.3.3 Agar yang menggunakan darah domba.....	17
2.1.3.4 Agar yang menggunakan darah manusia .....	18
2.1.3.5 Pencucian eritrosit.....	19
2.1.3.6 Pengaruh penambahan kadar hemoglobin .....	20
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN</b>	
<b>HIPOTESIS.....</b>	<b>22</b>
3.1 Kerangka teori.....	22
3.2 Kerangka konsep.....	23
3.3 Hipotesis.....	23
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	
<b>4.1 Ruang lingkup penelitian .....</b>	<b>25</b>
4.2 Tempat dan waktu penelitian .....	25
4.3 Jenis dan rancangan penelitian.....	25
4.4 Populasi dan sampel.....	25
4.4.1 Sampel.....	25
4.4.1.1 Kriteria inklusi .....	25
4.4.1.2 Kriteria eksklusi .....	26
4.4.2 Besar sampel .....	26
4.5 Variabel penelitian .....	27
4.5.1 Variabel bebas .....	27
4.5.2 Variabel terikat.....	27
4.6 Definisi operasional .....	28
4.7 Cara pengumpulan data.....	31
4.7.1 Bahan .....	31
4.7.2 Alat.....	31
4.7.3 Jenis data .....	32
4.7.4 Cara kerja .....	32
4.7.4.1 Pembuatan media uji sensitivitas antibiotik.....	32
4.7.4.1.1 Pembuatan <i>Haemophilus Test Media</i> .....	32
4.7.4.1.2 Defibrinasi darah domba .....	32
4.7.4.1.3 Pencucian darah manusia .....	33

4.7.4.1.4 Pembuatan media agar coklat .....	33
4.7.4.2 Uji sensitivitas antibiotik .....	34
4.8 Alur penelitian.....	36
4.9 Analisis data .....	37
4.10 Etika penelitian.....	37
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>38</b>
5.1 Analisis sampel .....	38
5.2 Analisis interferensial .....	39
<b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
<b>BAB VII SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>46</b>
7.1 Simpulan .....	46
7.2 Saran.....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2. Definisi operasional dan skala data variabel.....	28
Tabel 3. <i>Strength of agreement</i> uji statistik Kappa.....	39
Tabel 4. Perbandingan data resisten dan sensitif berbagai antibiotik .....	39
Tabel 5. Perbandingan harga media HTM, ACD, ACMHC tiap plate .....	45

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Haemophilus influenzae</i> .....	8
Gambar 2. <i>Haemophilus influenzae</i> membutuhkan faktor X dan V .....	10
Gambar 3. Uji sensitivitas antibiotic metode difusi dan dilusi .....	13
Gambar 4. <i>Mueller Hinton</i> agar .....	15
Gambar 5. Kerangka teori .....	22
Gambar 6. Kerangka konsep .....	23
Gambar 7. Alur penelitian.....	36
Gambar 8. Diagram <i>strength of agreement</i> uji statistik Kappa berbagai media uji sensitivitas .....	40

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical clearance</i> .....	51
Lampiran 2. Diameter zona inhibisi antibiotik pada berbagai macam media uji.....	52
Lampiran 2. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik amoksisilin-asam klavulanat pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM.....	57
Lampiran 3. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik tetrasiklin pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM.....	60
Lampiran 4. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik kotrimoksazol pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM.....	63
Lampiran 5. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik seftriakson pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM.....	66
Lampiran 6. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik kloramfenikol pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM.....	69
Lampiran 7. Dokumentasi penelitian .....	72
Lampiran 8. Identitas mahasiswa .....	74

## DAFTAR SINGKATAN

HTM	: <i>Haemophilus Test Media</i>
ACD	: Agar coklat dari darah domba
ACM	: Agar coklat dari darah manusia
ACMHC	: Agar coklat dari darah manusia yang dimodifikasi dengan penambahan kadar hemoglobin 20 gr/dl dengan menggunakan <i>packed red cell</i> dan pencucian empat kali
NAD	: Nicotinamide Adenine Dinukleotida
Hb	: Hemoglobin
KHM	: Konsentrasi Hambatan Minimum
MIC	: Minimum Inhibitory Concentration
CAMP test	: (Christie, Atkins, Munch, Petersen) uji yang digunakan untuk membedakan <i>Streptococcus agalactiae</i> dengan spesies <i>Streptococcus</i> beta-hemolitikus yang lainnya, terutama <i>Streptococcus</i> grup B.

## ABSTRAK

**Latar belakang :** Media standar untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae* adalah *Haemophilus Test Media*. Tidak diproduksinya media standar ini di Indonesia, serta mahalnnya harga impor membuat uji standar rutin untuk *Haemophilus influenzae* jarang dilakukan. Penggunaan darah manusia sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae* belum pernah dilakukan sebelumnya.

**Tujuan :** Membandingkan hasil uji sensitivitas berbagai antibiotik yang ditanam pada media *Haemophilus Test Media* (HTM), agar cokelat darah domba (ACD), agar cokelat darah manusia tanpa modifikasi (ACM), dan agar cokelat darah manusia dengan modifikasi cuci eritrosit secara intensif dan penambahan kadar hemoglobin (ACM<sub>H</sub>M).

**Metode :** Penelitian ini menggunakan rancangan *true-experimental post test only*. Uji kepekaan antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram (CLSI 2011) pada media HTM, ACD, ACM, ACM<sub>H</sub>C terhadap 11 strain *H.influenzae*. Kesesuaian hasil uji dengan media HTM diukur menggunakan uji statistik Kappa dengan syarat penerimaan  $K > 0,80$ .

**Hasil :** Uji statistik Kappa menunjukkan bahwa media ACD dan ACM memiliki nilai  $K > 0,80$  hanya untuk 40% (ACD) dan 60% (ACM) dari antibiotik yang diuji, sedangkan ACM<sub>H</sub>C memiliki nilai  $K > 0,80$  untuk semua antibiotik yang diuji.

**Kesimpulan :** ACD dan ACM tidak dapat dijadikan sebagai media alternatif untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*, sedangkan ACM<sub>H</sub>C dapat dijadikan sebagai media alternatif untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*.

**Kata kunci :** *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus Test Media*, Agar Cokelat Darah Manusia, Uji Sensitivitas Antibiotik.

## **ABSTRACT**

**Background :** *The standard medium for antibiotic susceptibility testing for Haemophilus influenzae is Haemophilus Test Media. This medium is not available in Indonesia and expensive so that routine standard testing of Haemophilus influenzae is rarely done. The use of human blood as a medium for susceptibility testing of Haemophilus influenzae has not been done before.*

**Aim :** *To compare results of antibiotic susceptibility test on Haemophilus Test Media (HTM) with those on sheep blood derived chocolate agar (ACD), human blood derived chocolate agar (ACM), and intensively washed human blood derived chocolate agar with higher hemoglobin (ACMHC)*

**Methods :** *This study design was true experimental post test only. Antibiotic susceptibility test was performed using disc diffusion method (CLSI 2011) on HTM, ACD, ACM, ACMHC for 11 H.influenzae strain. Agreement of the test results with HTM was measured using the Kappa statistical test with acceptance criteria of  $K > 0,80$ .*

**Results :** *Kappa value  $> 0,80$  was achieved by ACD and ACM for only 40% and 60% of antibiotic tested respectively, while ACMHC achieved  $K > 0,80$  for all antibiotic tested.*

**Conclusions :** *ACD and ACM could not be used as alternative media for susceptibility test for H.influenzae, while ACMHC could be used as alternative media for susceptibility test for H.influenzae.*

**Keyword :** *Haemophilus influenzae, Haemophilus Test Media, human blood derived chocolate agar, antibiotic susceptibility test.*

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

*Haemophilus influenzae* adalah bakteri gram negatif, berbentuk kokobasil, non motil, serta tidak membentuk spora. *H.influenzae* merupakan bakteri penting sebagai salah satu penyebab meningitis pada anak, pneumonia, dan bakteriemia.<sup>1</sup> Bakteri ini pula yang bertanggung jawab untuk lebih dari 3 juta penyakit dan 386.000 kematian akibat meningitis dan pneumonia di seluruh dunia.<sup>2</sup>

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.<sup>3</sup> Penyakit lain yang sering disebabkan oleh *H.influenzae* dan memiliki angka kesakitan dan kematian yang tinggi adalah Meningitis.<sup>4</sup>

Sebagai bakteri yang penting, *H.influenzae* sulit untuk ditumbuhkan karena sifatnya yang *fastidious*. Bakteri ini membutuhkan hemin (faktor X) dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotida* (faktor V) serta memerlukan inkubasi pada 35°C dengan konsentrasi CO<sub>2</sub> 5,5% agar dapat ditumbuhkan.<sup>1</sup>

*Haemophilus Test Media* (HTM) merupakan media standar yang ideal untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*. Namun,

harganya yang mahal serta tidak tersedianya HTM di Indonesia menjadi hambatan untuk dilakukannya uji sensitivitas dengan media tersebut. Media lainnya adalah agar coklat darah domba (ACD) atau kuda. Media ini merupakan *Mueller Hinton* yang ditambah dengan darah domba atau kuda untuk memenuhi faktor pertumbuhan *H.influenzae*.<sup>5</sup> Sayangnya, penggunaan darah domba atau kuda pada pembuatan agar coklat juga menimbulkan hambatan di Indonesia karena harganya mahal dan sulit untuk didapatkan.

Resistensi antibiotik menjadi masalah terdepan dalam pengobatan modern, dalam hal ini adalah resistensi *H.influenzae* terhadap antibiotik. Atas dasar epidemiologi penyakitnya yang tinggi di Indonesia ditambah dengan masalah resistensi antibiotik ini, pengadaan media uji sensitivitas rutin yang mudah serta murah sangat dibutuhkan.

Agar coklat darah manusia (ACM) merupakan salah satu media yang murah dan mudah dalam pengadaannya. 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 dari darah domba.<sup>5</sup>

Hambatan agar coklat darah manusia adalah adanya antikoagulan, komplemen dan antibodi terhadap *H.influenza* dalam darah manusia.<sup>6,7</sup> Melakukan pencucian eritrosit dengan cara yang tepat diharapkan dapat mengatasi masalah ini. Peningkatan jumlah eritrosit dengan menggunakan *Packed Red Cell* mungkin dapat meningkatkan pasokan hemin sebagai unsur yang diperlukan *H.influenza* dalam pertumbuhannya. Semakin



banyak eritrosit yang ditambahkan, semakin tinggi kadar konsentrasi hemoglobin pada agar coklat darah manusia tersebut. Apabila eritrosit tersebut dilisiskan maka akan banyak hemin yang dilepaskan sehingga diharapkan pertumbuhan *H.influenza* menjadi lebih baik daripada agar coklat darah manusia standar.

Mengurangi faktor inhibisi dan menambahkan faktor pertumbuhan mungkin mampu mengoptimisasi agar coklat darah manusia sebagai media tumbuh dan uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*. Dalam penelitian ini, pencucian eritrosit sebanyak 4 kali diharapkan mampu untuk mengurangi faktor inhibisi, sedangkan peningkatan kadar hemoglobin dengan menggunakan *packed red cell* diharapkan mampu untuk menambah faktor X sebagai faktor pertumbuhan.

## 1.2 Permasalahan penelitian

- 1) Apakah agar coklat darah domba (ACD), agar coklat darah manusia tanpa modifikasi (ACM), dan agar coklat darah manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit sebanyak 4 kali dan peningkatan kadar hemoglobin dengan menggunakan *Packed Red Cell* (ACMHC) dapat digunakan sebagai media uji sensitivitas terhadap antibiotik sebaik HTM?

### 1.3 Tujuan penelitian

#### 5.1.1.1 Tujuan umum

Mengetahui apakah agar coklat darah manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit sebanyak 4 kali dan penambahan kadar hemoglobin dengan menggunakan *Packed Red Cell* (ACMHC) dapat digunakan sebagai media alternatif uji sensitivitas terhadap antibiotik sebaik HTM

#### 5.1.1.2 Tujuan khusus

- 1) Membandingkan nilai kesesuaian hasil uji kepekaan antibiotik amoksisilin-asam klavulanat terhadap *H.influenzae* pada HTM, ACD, ACM, dan ACMHC.
- 2) Membandingkan nilai kesesuaian hasil uji kepekaan antibiotik seftriakson terhadap *H.influenzae* pada HTM, ACD, ACM, dan ACMHC.
- 3) Membandingkan nilai kesesuaian hasil uji kepekaan antibiotik tetrasiklin terhadap *H.influenzae* pada HTM, ACD, ACM, dan ACMHC.
- 4) Membandingkan nilai kesesuaian hasil uji kepekaan antibiotik kotrimoksazol terhadap *H.influenzae* pada HTM, ACD, ACM, dan ACMHC.
- 5) Membandingkan nilai kesesuaian hasil uji kepekaan antibiotik kloramfenikol terhadap *H.influenzae* pada HTM, ACD, ACM, dan ACMHC

#### 1.4 Manfaat penelitian

- 1) Memberikan dasar ilmiah tentang penggunaan agar coklat darah manusia sebagai pengganti agar coklat darah domba dan HTM sebagai media alternatif 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

**Tabel 1.** Keaslian Penelitian

No.	Peneliti	Metode Penelitian	Hasil
1.	Theofilus Ardy P.,dkk <i>Peningkatan Performa Agar Coklat Darah Manusia Sebagai Media Kultur Haemophilus</i>	<i>True experimental post test only</i> Variabel bebas : media agar coklat darah domba, dan media agar coklat darah manusia biasa, dan media agar coklat darah manusia modifikasi Variabel terikat : jumlah kuman, diameter koloni kuman, dan karakteristik	Tidak ada perbedaan yang bermakna dari pertumbuhan <i>H.influenzae</i> pada media agar coklat manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit, peningkatan kadar Hb, dan TSA base dibandingkan

<i>influenza</i> . 2011.	koloni kuman <i>H.influenzae</i> baik dari suspensi murni maupun sputum.	dengan <i>H.influenzae</i> yang ditumbuhkan pada media agar darah domba
2. M Gratten, dkk. <i>Comparison of goat and horse blood as cul-ture medium supplements for isolation and identification of Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumoniae from upper respiratory tract secretions</i> . 1994.	<i>True experimental post test only</i> Variabel bebas : agar coklat darah kuda dan agar coklat darah kambing Variabel terikat : jumlah koloni bakteri <i>H.influenzae</i> dan <i>S.pneumoniae</i> pada media kultur.	Tidak ada perbedaan bermakna antara agar coklat darah kambing dan agar coklat darah kuda sebagai media isolasi dan identifikasi <i>H.influenzae</i> dan <i>S.pneumoniae</i>
3. Jorgensen, J.H., dkk. <i>Improved medium for antimicrobial susceptibility testing of Haemophilus influenzae</i> . 1987	<i>True experimental post test only</i> Variabel bebas : media uji sensitivitas antibiotik, yaitu HTM dan <i>Mueller Hinton</i> Coklat ( <i>Mueller hinton</i> agar dengan 1% Hb dan 1% IsoVitalax) Variabel terikat : interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik ampisilir	Diameter zona inhibisi pada HTM dapat dengan mudah dilihat dan tidak ada perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan media <i>Mueller Hinton</i> Coklat ( <i>Mueller hinton</i> agar dengan

---

amoksisilin-asam	1% Hb dan 1%
klavulanat, sefalotin,	IsoVitalex)
sefamandol, sefalotin,	
sefaklor, kloramfenikol,	
eritromisin, rifampisin,	
tetrasiklin, cotrimoksazol	

---

Penelitian yang diusulkan ini memiliki perbedaan dengan penelitian-penelitian di atas. Penelitian Theofilus dkk membandingkan kemampuan media agar coklat manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit, peningkatan kadar Hb, dan TSA *base* dengan media agar darah domba, sedangkan penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kemampuan media agar coklat darah manusia tanpa modifikasi (ACM), media agar coklat darah manusia yang dimodifikasi pencucian eritrosit dan penambahan kadar hemoglobin (ACMHC) dengan agar coklat darah domba dan *Haemphilus Test Media* sebagai media uji sensitivitas antibiotik.

Penelitian M Gratten dkk hanya membandingkan antara media agar coklat darah kuda dan agar coklat darah kambing sebagai media isolasi dan identifikasi *H.influenzae*, tanpa menggunakan HTM sebagai control. Penelitian Jorgensen dkk membandingkan antara HTM dengan media *Mueller Hinton* modifikasi. Berbeda dengan dua penelitian di atas, penelitian yang diusulkan ini menggunakan HTM sebagai media standar, dan menggunakan agar coklat darah manusia sebagai media alternatif.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Identifikasi variabel

##### 2.1.1 *Haemophilus influenzae*

*H. influenzae*, sebelumnya dikenal dengan basil *Pfeiffer* atau *influenza Bacillus* adalah bakteri gram negative, kokobasil, non motil, dan tidak membentuk spora. *H. influenzae* termasuk family *Pasteurellaceae*, umumnya hidup secara aerobik, tetapi dapat juga tumbuh sebagai anaerob fakultatif dan pertama kali dijelaskan pada 1892 oleh Richard Pfeiffer selama pandemi influenza.<sup>8</sup>

Dalam spesimen yang berasal dari infeksi akut, organisme ini menjadi pendek (1,5 µm) kokobasil, yang kadang-kadang muncul berpasangan atau berupa rantai pendek. Dalam biakan, morfologinya tergantung pada media dan lamanya biakan. Selama 6-8 jam pada media yang kaya, sebagian besar *H. influenzae* akan berbentuk kokobasil kecil, untuk kemudian akan berbentuk batang panjang, lisis, dan akhirnya memiliki bentuk yang sangat pleiomorfik.<sup>9</sup>

Terdapat dua *serotype* untuk *H. influenzae* yaitu berkapsul (*encapsulated*) dan tidak berkapsul (*unencapsulated* / NTHi). Enam tipe kapsul untuk *H. influenzae* yang sudah dapat dikenali yaitu tipe a, b, c, d, e, dan f.<sup>10</sup> Kapsul polisakarida tersebut menyebabkan kuman

resisten untuk difagosit dan dilisikan oleh komplemen. Salah satu tipe *H.influenzae* berkapsul yaitu Hib yang diketahui menjadi penyebab utama dari epiglottitis, pneumonia, bakteriemia, dan meningitis bakterial akut. Unencapsulated *Haemophilus influenza* memiliki daya invasive yang lemah, namun dapat menyebabkan penyakit seperti otitis media, konjungtivitis, dan sinusitis pada anak. Manifestasi klinik yang ditimbulkan juga dipengaruhi oleh lokasi infeksi dan juga system kekebalan tubuh dari penderita.<sup>2</sup>



Gambar 1. *Haemophilus influenzae* (dikutip dari [www.sharinginhealth.ca](http://www.sharinginhealth.ca))

Umumnya *H.influenza* yang hidup komensal adalah tipe NTHi (unencapsulated), namun encapsulated *H.influenza* (Hib) dapat pula ditemukan pada saluran napas atas 3-7% manusia normal.<sup>11</sup> Penularan *H.influenzae* terutama lewat droplet pernafasan yang telah terkontaminasi bakteri ini. *H.influenzae* juga bisa menjadi

bakteri patogen oportunistik di saluran napas bagian atas pada *host* dengan immunokompromaise.<sup>12</sup>

Diagnosis *presumptive* dari infeksi *H.influenzae* dapat diketahui dengan melakukan pengecatan gram dan deteksi serum antigen pada material klinik yang didapatkan dari pasien. Pada pengecatan gram, *H.influenzae* dapat diketahui dengan melihat karakteristiknya, yaitu gram negative, kokobasil, atau dapat juga sebagai bentukan filamen yang *pleiomorfik*.<sup>13</sup> Selanjutnya dapat dilakukan uji *Quellung* untuk membedakan antara *H.influenzae* tipe *encapsulated* dan *unencapsulated*. Kedua diagnosis tadi dapat dilakukan untuk *rapid diagnosis* dan hanya bersifat sementara. Sedangkan diagnosis pasti dilakukan dengan cara kultur bakteri pada media agar.<sup>13</sup>

*Haemophilus influenza* dalam pertumbuhannya membutuhkan faktor X dan faktor V.<sup>1</sup> Faktor X atau hemin merupakan substansi kompleks yang terdapat ikatan antara Fe dan porfirin. Secara spesifik, hemin adalah protoporfirin IX yang mengandung ion Fe dan clorida.<sup>14</sup> Sedangkan faktor V adalah *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD) merupakan koenzim yang berperan dalam reaksi redox pada metabolisme sebagai pembawa elektron.<sup>15</sup>

Kedua faktor pertumbuhan tersebut terdapat di dalam eritrosit. Di laboratorium, kedua faktor tersebut didapatkan dengan cara memanaskan darah pada suhu 80°C, eritrosit melepaskan NAD dan hemin serta membuat media tersebut berwarna coklat sehingga



disebut coklat agar. Pertumbuhan *H. influenzae* umumnya dilakukan pada inkubasi CO<sub>2</sub> 5,5% dengan suhu 37°C dan pH optimum 7,6.<sup>1</sup>

Tampilan koloni *H.influenzae* pada coklat agar yaitu koloni transparan, keabu-abuan atau kehijauan, cembung. Karakteristik lainnya adalah bau khas (*mousy odor*) yang sering ditemukan.<sup>16</sup>



Gambar 2. *Haemophilus influenzae* membutuhkan faktor X dan V untuk pertumbuhan. Bakteri tumbuh dengan baik pada cakram dengan faktor X dan V, sedangkan pada cakram X atau V tidak tumbuh (dikutip dari <http://www.flickr.com/photos/medmicro/2402321868/in/photostream/> )

## 2.1.2 Metode uji sensitivitas antibiotik

### 2.1.2.1 Metode difusi

Metode difusi cakram merupakan metode uji sensitivitas antibiotik yang direkomendasikan oleh CLSI. Metode ini sangat praktis dan mudah dilakukan serta

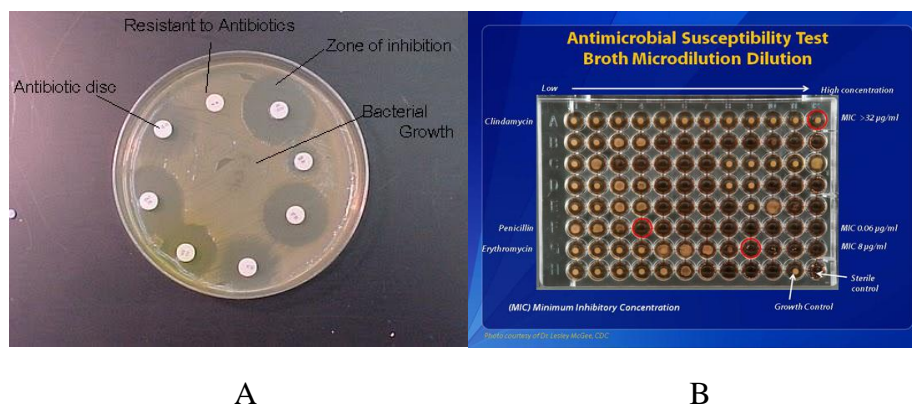
memiliki tingkat keakuratan yang cukup tinggi.<sup>17</sup> Metode difusi cakram yang dilakukan sekarang merupakan modifikasi dari uji sensitivitas antibiotik metode difusi cakram yang dilakukan oleh Kirby, Bauer.

Prinsip pengujian sensitivitas antibiotik metode difusi didasarkan pada penghambatan pertumbuhan mikroba oleh antibiotik pada sebuah lempeng agar yang diinokulasi. Zat di dalam antibiotik akan berdifusi dari cakram kertas yang akan diresapi dengan antibiotik dengan jumlah yang telah ditentukan ke permukaan agar. Mikroorganisme dianggap sensitif atau resisten dengan melihat diameter zona inhibisinya.<sup>19</sup>

#### **2.1.2.2 Metode dilusi**

Untuk pengukuran uji sensitivitas antibiotik secara kuantitatif, pengenceran ( dilusi ) antimikroba dapat digabungkan ke dalam kaldu atau media agar yang kemudian diinokulasi dengan organisme yang diuji.<sup>18</sup> Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan setelah inkubasi semalaman disebut Konsentrasi Hambatan Minimum/KHM (Minimum Inhibitory Concentration/MIC) zat tersebut. Untuk menilai kemungkinan respon klinik obat, nilai KHM ini kemudian dibandingkan dengan konsentrasi

obat yang diketahui tercapai dalam serum dan cairan tubuh lainnya.<sup>18</sup>



Gambar 3. Uji sensitivitas antibiotik metode difusi (A), Uji sensitivitas antibiotik metode dilusi (B)

### 2.1.3 Media uji sensitivitas

#### 2.1.3.1 *Mueller Hinton* agar

*Mueller Hinton* agar merupakan media kultur mikrobiologi yang juga digunakan sebagai media uji sensitivitas antibiotik. Awalnya media ini direkomendasikan oleh Mueller dan Hinton sebagai media isolasi spesies *Neisseria* dan juga sebagai media untuk uji resistensi dan kepekaan bakteri-bakteri strain gonokokus terhadap *sulfonamide*.<sup>25</sup> Namun, sekarang *Mueller Hinton* agar lebih banyak digunakan sebagai media uji sensitivitas

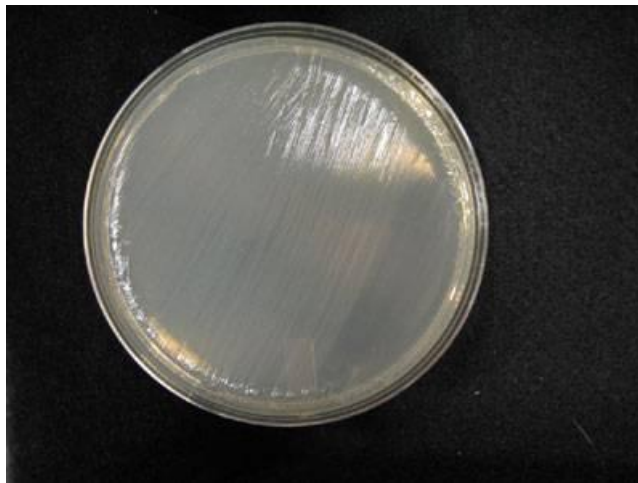
metode difusi cakram sejak dilakukannya penelitian oleh Bauer *et al.*<sup>19</sup>

*Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* telah merekomendasikan *Mueller Hinton* sebagai media uji sensitivitas antibiotik untuk bakteri-bakteri yang mudah tumbuh.<sup>19</sup> Media ini sering digunakan sebagai *agar base* karena sangat baik dalam menumbuhkan inokulum serta mampu menyerap racun yang diproduksi oleh bakteri selama pertumbuhannya. Namun, *Mueller Hinton* tidak mampu digunakan sebagai media kultur dan uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* karena tidak memiliki faktor X dan V.<sup>19</sup>

#### **Komposisi Mueller-Hinton Agar:**

Beef Extract.....	2.0 gr
Acid Hydrolysis of Casein .....	17.5
Starch .....	1.5
Agar .....	17.0

Final pH  $7.3 \pm 0.1$  pada  $25^{\circ}\text{C}$



Gambar 4. *Mueller Hinton* agar (dikutip dari laman <http://www.growth-medium.com/Product/298/>)

#### 2.1.3.2 *Haemophilus Test Media* (HTM)

*H.influenzae* merupakan bakteri yang *fastidious*, yaitu membutuhkan nutrisi dan kondisi khusus untuk dapat tumbuh. Bakteri ini membutuhkan faktor X (hemin) dan faktor V (NAD).<sup>1</sup> Karena alasan ini, *Mueller Hinton* tidak dapat digunakan sebagai media uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae*. Upaya penambahan nutrisi pada media ini, yaitu berupa penambahan darah domba atau kuda juga tidak mampu mengatasi masalah ini karena dengan penambahan ini media menjadi lebih padat sehingga menyebabkan ketidakakuratan uji sensitivitas.

Pada tahun 1987 Dr. Jorgensen,dkk mengembangkan media uji sensitivitas antibiotik terhadap

*Haemophilus influenza* yang disebut sebagai *Haemophilus Test Media* (HTM). HTM memiliki komposisi yang sama dengan *Mueller Hinton* dengan penambahan *yeast extract* dan faktor-faktor pertumbuhan lain, yaitu faktor X (hemin) dan faktor V (NAD).

HTM merupakan media yang sederhana serta memiliki resiko minimum terhadap agen antimikroba antagonis. Media ini direkomendasikan oleh *The United States National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) sebagai media untuk uji sensitivitas baik secara dilusi dan difusi cakram.<sup>19</sup>

**Komposisi *Haemophilus Test Media* :**

<i>Beef Extract</i> .....	2.0 g
<i>Acid Hydrolysis of Casein</i> .....	17.5
<i>Starch</i> .....	1.5
<i>Yeast Extract</i> .....	5.0
Agar .....	17.0
<i>Bovine Hematin</i> .....	15.0 mg
<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i> (NAD) .....	15.0

pH akhir  $7.3 \pm 0.1$  at  $25^{\circ}\text{C}$

### 2.1.3.3 Agar yang menggunakan darah domba

Agar darah domba banyak digunakan untuk menumbuhkan kuman yang sulit tumbuh karena membutuhkan media dengan kandungan nutrisi yang kompleks. Agar darah domba juga digunakan untuk identifikasi jenis kuman dan tes sensitivitas antibiotik. Penggunaan agar darah domba didasarkan pada fakta dimana penggunaan agar darah manusia pada laboratorium mikrobiologi gagal menumbuhkan bakteri patogen serta meningkatkan transmisi hepatitis dan HIV. Agar darah domba dapat menumbuhkan *Streptococcus pneumonia* dengan karakteristik pertumbuhan, morfologi koloni dan pola hemolisis yang dapat diamati. Agar darah domba dapat pula untuk menguji tes khusus seperti CAMP test, reverse CAMP test, dan koloni satelit pada pertumbuhan *Haemophilus influenza*.<sup>20</sup>

Keunggulan dari darah domba sebagai media kultur terhadap *H.influenzae* adalah media ini dapat menyediakan unsur yang dibutuhkan oleh bakteri *fastidious* tersebut. Kemampuan tumbuh bakteri pada media agar darah tergantung dari morfologi dan komposisi membrane sel eritrosit dalam mempengaruhi kemampuan hemolisis kuman.<sup>20</sup>

#### 2.1.3.4 Agar yang menggunakan darah manusia

Agar coklat 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.

Darah manusia tidak direkomendasikan dalam pembuatan agar coklat darah karena mengandung berbagai komponen antibodi dan komplemen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen manusia termasuk *H.influenzae*. Selain itu, darah manusia biasanya juga ditambah dengan antikoagulan seperti *Acid Citrate Dextrose* dan *Citrate Phosphate Dextrose* yang bersifat bakterisida sehingga bisa menyebabkan terjadinya misdiagnosis.<sup>20</sup>

Penggunaan darah manusia yang sudah kadaluarsa memberikan masalah dimana darah yang disimpan mengalami perubahan morfologi dan biokimia. 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* type b.<sup>21</sup>

#### 2.1.3.5 Pencucian eritrosit

Komplemen, antibodi, serta antikoagulan yang terdapat pada darah manusia merupakan faktor-faktor inhibisi untuk pertumbuhan *H.influenzae*. Diketahui bahwa komplemen bersifat *heat-labil* yang inaktif pada suhu 56°C namun antibodi adalah senyawa yang bersifat *heat-stable* yang tidak rusak pada pemanasan suhu tinggi sekalipun. Faktor lain yang dapat menginaktifkan keduanya sekaligus menghilangkan efek antikoagulan adalah pH dan pencucian.

Proses pencucian adalah intervensi yang ideal karena dapat menghilangkan komplemen serta antibodi yang bersifat *heat-stable* tanpa merusak substrat penting lainnya.<sup>22</sup> Prinsip pengerjaan pencucian eritrosit adalah dengan menambahkan larutan normal saline dan pemutaran/*sentrifuge* pada kecepatan tertentu untuk memisahkan eritrosit dari plasma yang mengandung

komplemen dan antibodi. Dengan sentrifugasi, eritrosit akan mengendap karena berat, sedangkan antibodi, komplemen, dan antikoagulan naik ke permukaan karena lebih ringan sehingga mudah dibuang.<sup>22</sup> Setelah proses pencucian yang intensif akan didapatkan darah manusia yang tidak mengandung antibodi dan komplemen yang merupakan faktor penghambat pertumbuhan *H.influenzae*.

#### **2.1.3.6 Pengaruh penambahan kadar hemoglobin (*packed red cell*)**

Hemoglobin merupakan senyawa metaloprotein (protein yang mengandung zat besi) di dalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dan karbondioksida.<sup>27</sup>

Pada pusat struktur terdapat cincin heterosiklik yang dikenal dengan porfirin yang menahan satu atom besi yang merupakan situs ikatan oksigen. Porfirin yang mengandung besi disebut heme. Nama hemoglobin sendiri merupakan gabungan dari heme dan globin. Globin merupakan istilah generik untuk protein globular.<sup>27</sup>

Penambahan darah domba atau kuda pada saat pembuatan agar coklat menyediakan kebutuhan *H.influenzae* akan faktor X (hemin). Seperti kita ketahui

bahwa *H.influenzae* membutuhkan faktor X (hemin) dan faktor V (NAD) dalam pertumbuhan. Darah domba atau kuda yang dipanaskan pada suhu tertentu dapat melisis eritrosit tanpa merusak faktor X dan V tersebut.<sup>5</sup>

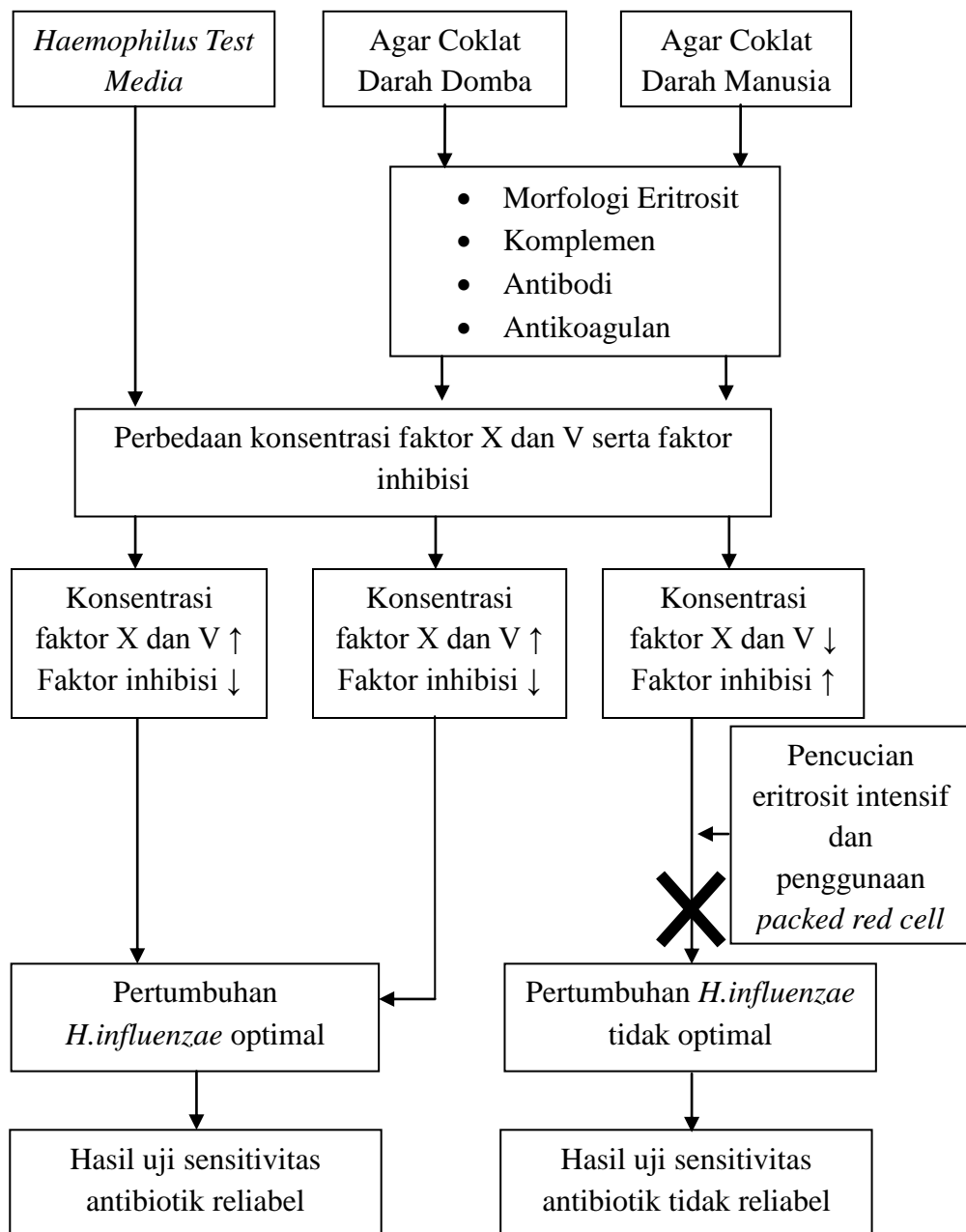
Di Indonesia, penggunaan darah manusia sebagai pengganti darah domba atau kuda untuk pembuatan agar coklat rutin dilakukan. Namun, hasilnya masih belum bisa menumbuhkan *H.influenzae* sebaik di agar coklat yang menggunakan darah domba atau kuda. Mencoba mengoptimalkan penggunaan darah manusia, dalam penelitian ini pembuatan agar coklat dari darah manusia digunakanlah *packed red cell*.

*Packed red cell* adalah salah satu preparat transfusi darah yang telah dihilangkan plasma dan trombositnya. *Packed red cell* dipilih karena hemoglobinya lebih tinggi dibandingkan *whole blood*.<sup>21</sup> Kadar hemoglobinya  $17,4 \pm 1,2$  g/dl. Sedangkan kadar hemoglobin *whole blood* adalah  $13,8 \pm 1,1$  g/dl. 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.

## BAB III

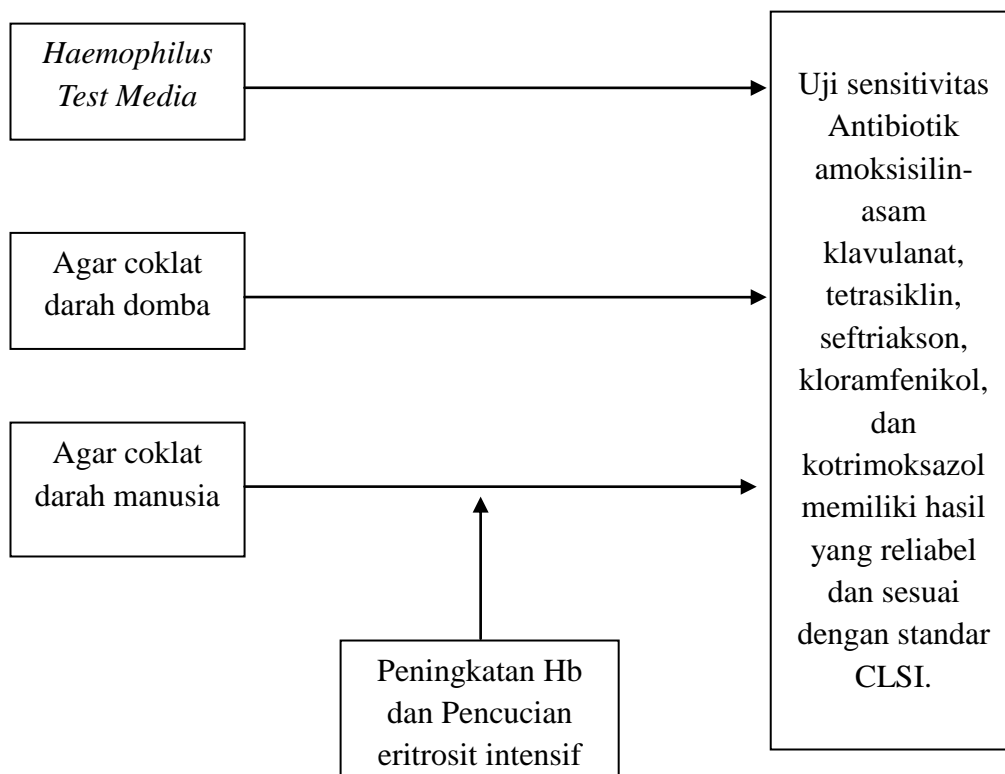
### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka teori



Gambar 5. Kerangka teori

### 3.2 Kerangka konsep



Gambar 6. 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, ACM, dan ACMHC dengan HTM

### 3.3.2 Hipotesis minor

1) Antibiotik Amoksisilin-asam klavulanat

Hasil uji sensitivitas antibiotik amoksisilin-asam klavulanat terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACM dan ACMHC memiliki nilai kesesuaian yang sangat tinggi dengan HTM.

2) Antibiotik Seftriakson

Hasil uji sensitivitas antibiotik seftriakson terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACM dan ACMHC memiliki nilai kesesuaian yang sangat tinggi dengan HTM.

3) Antibiotik Tetrasiklin

Hasil uji sensitivitas antibiotik tetrasiklin terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACM dan ACMHC memiliki nilai kesesuaian yang sangat tinggi dengan HTM.

4) Antibiotik Kotrimoksazol

Hasil uji sensitivitas antibiotik kotrimoksazol terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACM dan ACMHC memiliki nilai kesesuaian yang sangat tinggi dengan HTM.

5) Antibiotik Kloramfenikol

Hasil uji sensitivitas antibiotik kloramfenikol terhadap *H.influenzae* pada media ACD, ACM dan ACMHC memiliki nilai kesesuaian yang sangat tinggi dengan HTM.

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang lingkup penelitian**

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

#### **4.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang selama 3 bulan, dimulai pada bulan Maret – Mei 2012.

#### **4.3 Jenis dan rancangan penelitian**

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

#### **4.4 Populasi dan sampel**

##### **4.4.1 Sampel**

##### **4.4.1.1 Kriteria inklusi**

Strain *H. influenzae* ATCC 49247, strain dari isolat klinik RSUP Dr. Kariadi dan strain isolat swab orang sehat yang tumbuh pada media HTM, agar coklat dari darah domba, dan agar coklat dari darah manusia.

#### 4.4.1.2 Kriteria eksklusi

Adanya kontaminasi pada media HTM, agar coklat dari darah domba dan agar coklat dari darah manusia yang digunakan untuk media uji sensitivitas.

#### 4.4.2 Besar sampel

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 Tes Media
- 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 tanpa dilakukan intervensi
- 4) Penanaman pada agar coklat dari darah manusia dari bank darah, disiapkan dengan pencucian 4 kali dan Hb  $17,2 \pm 1,2$  gr/dl (*packed red cel*)

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.

#### **4.5 Variabel penelitian**

##### **4.5.1 Variabel bebas**

Jenis media uji sensitivitas antibiotik

##### **4.5.2 Variabel terikat**

Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik terhadap *Haemophilus influenza*

#### 4.6 Definisi operasional

Tabel 2. Definisi operasional dan skala data variabel

Jenis Variabel	Nama Variabel	Skala Data	Definisi Operasional	Nilai
Bebas	Jenis media uji sensitivitas antibiotik	Interval	Jenis bahan dan cara pembuatan media uji sensitivitas antibiotik dengan bahan tersebut	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Haemophilus Tes Media (Mueller-Hinton agar dengan penambahan <i>bovine</i> hematin, NAD, dan ekstrak <i>yeast</i>) pH <math>7.3 \pm 0.1</math> suhu <math>25^{\circ}\text{C}</math></li> <li>2. Agar coklat dari darah domba (Mueller-Hinton agar dengan penambahan 5% darah domba yang didefibrinasi dan dipanaskan) ;pH <math>7.3 \pm 0.1</math> suhu <math>25^{\circ}\text{C}</math></li> <li>3. Agar coklat dari darah manusia dari bank darah tanpa modifikasi</li> <li>4. Agar coklat dari darah manusia dari bank darah dengan modifikasi pencucian 4 kali dan Hb <math>17,4 \pm 1,2</math> gr/dl (<i>packed red cell</i>).; pH <math>7,3 \pm 0.1</math> suhu <math>25^{\circ}\text{C}</math></li> </ol>

Tabel 2. Definisi operasional dan skala data variabel (lanjutan)

Jenis Variabel	Nama Variabel	Skala Data	Definisi Operasional	Nilai
Terikat	Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik <i>Haemophilus influenzae</i>	Ordinal	Interpretasi diameter zona inhibisi yang dapat dilihat pada plate ukuran 9 cm dengan <i>Haemophilus influenzae</i> yang diisolasi kemudian diberi cakram-cakram antibiotik dan diinkubasi pada suhu 35 °C; 5% CO <sub>2</sub> ; 18-24 jam menurut CLSI	1 = Resisten (R) / <i>Intermediate</i> (I) - Amoksisilin – asam klavulanat 20/10 µg ≤ 19 - Seftriakson 30 µg - - Tetrasiklin 30 µg ≤ 28 - Kotrimoksazol 1,25/23,75 µg ≤ 15 - Kloramfenikol 30 µg ≤ 28

Tabel 2. Definisi operasional dan skala data variabel (lanjutan)

Jenis Variabel	Nama Variabel	Skala Data	Definisi Operasional	Nilai
Terikat	Interpretasi	Ordinal	Interpretasi diameter zona inhibisi yang dapat dilihat pada plate ukuran 9 cm dengan <i>Haemophilus influenzae</i> yang diisolasi kemudian diberi cakram-cakram antibiotik dan diinkubasi pada suhu 35 °C; 5% CO <sub>2</sub> ; 18-24 jam menurut CLSI	2 = Sensitif (S)
	diameter zona inhibisi antibiotik <i>Haemophilus influenzae</i>			<ul style="list-style-type: none"> <li>- Amoksisilin – asam klavulanat 20/10 µg ≥ 20</li> <li>- Seftriakson 30 µg ≥ 26</li> <li>- Tetrasiklin 30 µg ≥ 29</li> <li>- Kotrimoksazol 1,25/23,75 µg ≥ 16</li> <li>- Kloramfenikol 30 µg ≥ 29</li> </ul>

## **4.7 Cara pengumpulan data**

### **4.7.1 Bahan**

- 1) Haemophilus Tes Media
- 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 %
- 8) Baku kekeruhan

### **4.7.2 Alat**

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

### 4.7.3 Jenis data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yaitu diameter zona inhibisi antibiotik *H. influenzae* pada media uji sensitivitas antibiotik yang diuji.

### 4.7.4 Cara kerja

#### 4.7.4.1 Pembuatan media uji sensitivitas antibiotik

##### 4.7.4.1.1 Pembuatan *Haemophilus Test Media*

- 1) *Haemophilus Test Medium Base* sebanyak 21,5 gram dituangkan ke dalam 500 ml air suling kemudian didihkan sampai larut
- 2) Sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit pada autoklaf
- 3) Dinginkan sampai 50°C kemudian ditambahkan 1 vial *Haemophilus Test Media Supplement*
- 4) Diaduk sampai homogen kemudian dituangkan ke dalam cawan petri.

##### 4.7.4.1.2 Defibrinasi darah domba

- 1) Siapkan erlenmeyer atau labu ukur yang berisi *glassparell* dengan jumlah sesuai dengan darah domba yang digunakan
- 2) Bagian atas tabung ditutup, diberi selang dan jarum steril untuk mengalirkan darah

- 3) Bagian jarum ditusukkan ke vena jugularis eksterna domba kemudian begitu darah mengalir ke tabung mulai digoyangkan selama sekitar 15 menit agar fibrin melekat pada *glassparell* dan dinding Erlenmeyer agar darah tidak menjendal.

#### **4.7.4.1.3 Pencucian darah manusia**

- 1) Siapkan *packed red cell* kemudian ditambah dengan larutan salin sebanyak plasma yang dibuang
- 2) Putar 3300 rpm selama 1,5 – 2 menit
- 3) Supernatant dibuang
- 4) Lakukan pencucian sebanyak dua kali (cara standar) dan empat kali (modifikasi cuci)
- 5) Endapan sel darah merah yang telah dicuci merupakan suspensi 100%.

#### **4.7.4.1.4 Pembuatan media agar coklat**

- 1) Media *Mueller Hinton* agar dipanaskan pada suhu 121°C selama 15 menit pada autoklaf
- 2) Dinginkan sampai suhu 80°C di dalam *waterbath* kemudian dituangi darah dengan perbandingan 3-5%

- 3) Segera kocok suspensi sampai homogeny
- 4) Tuangkan ke dalam cawan petri dan biarkan beku.

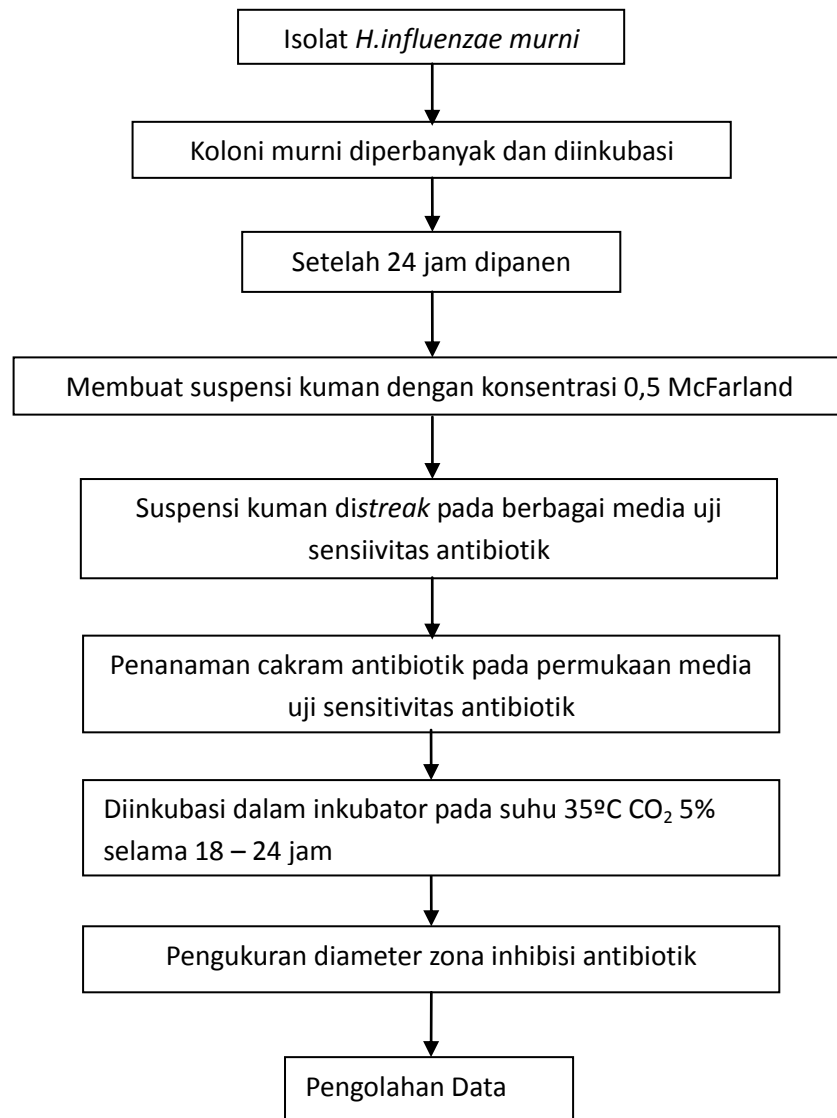
#### **4.7.4.2 Uji sensitivitas antibiotik**

- 1) Cara membuat inokulum dari lempeng biakan primer, dengan menggunakan ose steril sentuh puncak dari tiap 3-5 koloni *H.influenzae* yang akan diuji
- 2) Pindahkan koloni tersebut ke dalam tabung berisi *saline*
- 3) Buat suspensi 0,5 Mc.Farland dengan menggunakan densitometer
- 4) Inokulasikan lempeng dengan cara mencelupkan lidi kapas steril ke dalam suspensi bakteri. Singkirkan kelebihan cairan dengan menekan dan memutar lidi kapas kuat-kuat pada sisi tabung di atas batas cairan
- 5) Guratkan 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.
- 6) Biarkan inokulum mengering selama beberapa menit pada suhu ruang dengan cawan tertutup.



- 7) Inokulasikan cakram antibiotik ke permukaan agar dengan menggunakan penjepit steril atau cetakan cakram
- 8) Tiap cakram harus ditekan perlahan untuk memastikan kontak yang merata dengan media
- 9) Media diletakkan dalam inkubator pada sungkup lilin dengan suhu 35<sup>0</sup> C.
- 10) Setelah inkubasi semalam, diameter tiap zona inhibisi (termasuk diameter cakram) harus diukur dan dicatat dalam mm

#### 4.8 Alur penelitian



Gambar 7. Alur penelitian

#### **4.9 Analisis data**

Sebelum dilakukan analisis dilakukan *cleaning, coding*, tabulasi data dan kemudian data dimasukkan kedalam komputer. Hasil pengamatan pada semua variabel tergantung dianalisis dengan menggunakan uji statistik Kappa untuk mencari tingkat kesesuaian dengan media standar.

Kesesuaian dinyatakan mencukupi apabila telah mencapai nilai sangat tinggi, yaitu nilai Kappa  $>0,80$ . Analisis data akan menggunakan program komputer.

#### **4.10 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**

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah strain bakteri *Haemophilus influenzae* yang didapatkan dari biakan murni selama 24 jam, yaitu strain ATCC 49247 (*American Type Culture Collection*) dan strain bakteri hasil biakan dari swab nasofaring dengan jumlah replikasi sebanyak 10 kali dilakukan secara diplo sesuai dengan rumus Federer.

Bakteri tersebut ditanam pada media standar dan berbagai media agar coklat darah, yaitu HTM (*Haemophilus Test Media*) sebagai media standar, ACD (Agar Coklat Darah Domba), ACM (Agar Coklat Darah Manusia tanpa modifikasi), dan ACMHC (Agar Coklat Darah Manusia dengan modifikasi penambahan kadar Hemoglobin dan Pencucian eritrosit secara intensif) untuk kemudian dilakukan uji kepekaan antibiotik.

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah amoksisilin-asam klavulanat, tetrasiklin, kotriksazol, seftriakson, dan kloramfenikol. Kelima antibiotik tersebut mewakili lima golongan antibiotik yang berbeda, yaitu golongan beta laktam, polipeptida, sulfonamida, sefalosporin, dan amfinekol.

## 5.2 Analisis Inferensial

Analisis inferensial adalah analisis statistik yang digunakan untuk mengambil keputusan. Uji statistik yang digunakan adalah uji statistik Kappa, untuk menentukan kesesuaian antara media standar (HTM) dengan media modifikasi.

Tabel 3. *Strength of Agreement* uji statistik Kappa

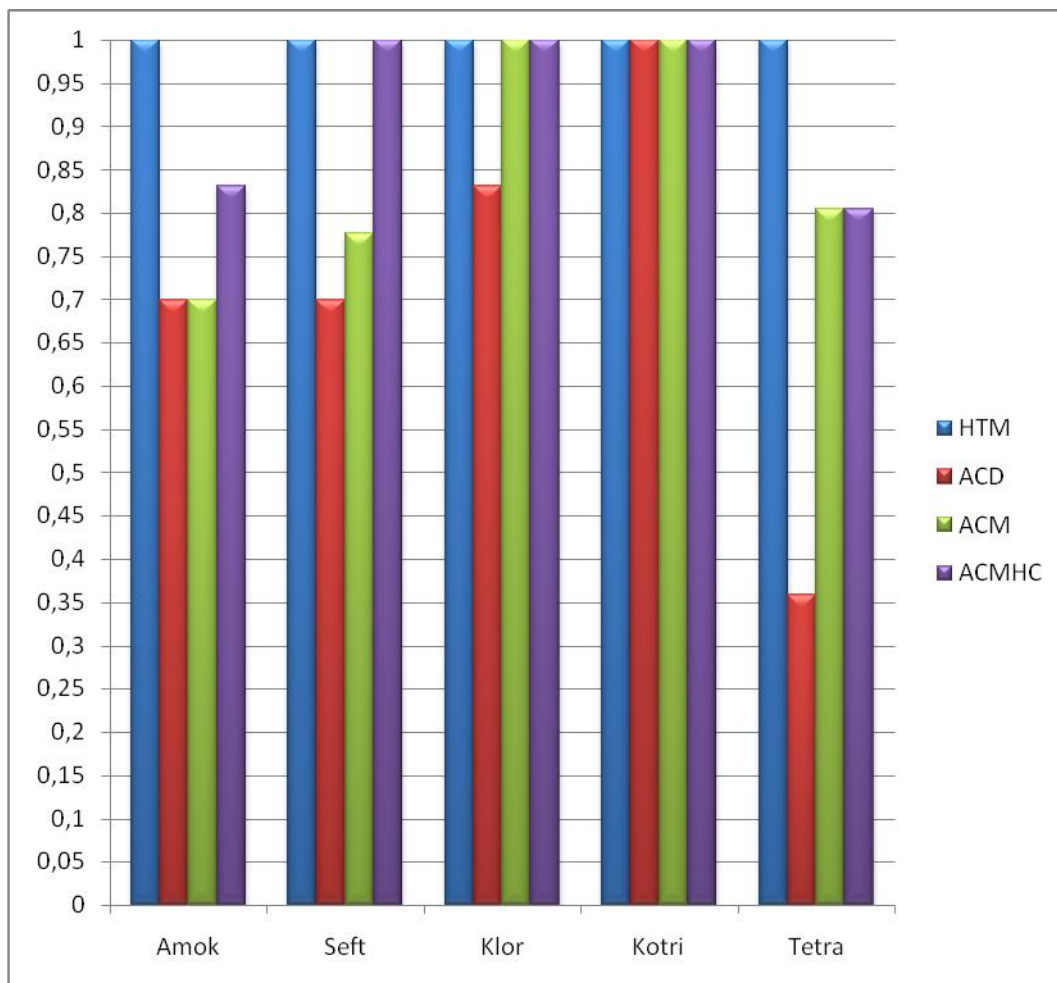
<i>Value of K</i>	<i>Strength of agreement</i>	
< 0.20	<i>Poor</i>	<i>(slight agreement)</i>
0.21 - 0.40	<i>Fair</i>	<i>(fair agreement)</i>
0.41 - 0.60	<i>Moderate</i>	<i>(moderate agreement)</i>
0.61 - 0.80	<i>Good</i>	<i>(substansial agreement)</i>
0.81 – 0.99	<i>Very good</i>	<i>(almost perfect agreement)</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 hasil penelitian yang dapat dikatakan layak apabila mencapai nilai di atas 0,80 (*very good/almost perfect agreement*).<sup>26</sup> Semakin tinggi nilai *agreement* media modifikasi maka semakin sesuai media tersebut dengan media standar uji sensitivitas (HTM).

Tabel 4. Perbandingan data resisten dan sensitif berbagai antibiotik

Media	Amocl		Tetra		Seft		Klor		Kotri	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
HTM	3	19	7	15	3	19	4	18	1	21
ACD	5	17	15	7	5	17	3	19	1	21
ACM	5	17	9	13	2	20	4	19	1	21
ACMHC	4	18	9	13	3	19	4	19	1	21



Gambar 8. Diagram *strenght of agreement* uji statistik Kappa berbagai media uji sensitivitas

Pada media agar coklat darah domba (ACD) nilai uji statistik Kappa sebagai media uji sensitivitas yang lebih dari 0,80 hanya terdapat pada dua antibiotik, yaitu untuk antibiotik kloramfenikol dan kotrimoksazol, sedangkan pada antibiotik amoksisilin-asam klavulanat, seftriakson, dan tetrasiklin nilai uji statistik Kappa kurang dari 0,80.

Pada media agar coklat darah manusia tanpa modifikasi (ACM) nilai uji statistik Kappa sebagai media uji sensitivitas yang lebih dari 0,80 hanya terdapat pada tiga antibiotik, yaitu kloramfenikol, kotrimoksazol, dan tetrasiklin, sedangkan pada antibiotik amoksisilin-asam klavulanat dan seftriakson nilai uji statistik Kappa kurang dari 0,80.

Pada media agar coklat darah manusia dengan modifikasi penambahan kadar hemoglobin dan pencucian eritrosit secara intensif (ACMHC) didapatkan hasil bahwa media ini memiliki nilai Kappa sebagai media uji sensitivitas lebih dari 0,80 untuk semua antibiotik yang diuji, yaitu amoksisilin-asam klavulanat, tetrasiklin, seftriakson, kloramfenikol, dan kotrimoksazol.

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ACD dan ACM memiliki nilai kesesuaian dengan HTM (Kappa) di bawah standar, yaitu  $<0,80$ , sedangkan nilai Kappa pada media ACMHC telah memenuhi standar, yaitu  $>0,80$ . Pada media ACD hanya dua (40%) antibiotik yang diuji yang mampu mencapai nilai Kappa  $>0,80$ , pada ACM hanya tiga (60%) antibiotik yang diuji yang mampu mencapai nilai Kappa  $>0,80$ , sedangkan pada ACMHC semua (100%) antibiotik yang diuji mampu mencapai nilai Kappa  $>0,80$ .

Menurut Wattimena *et al.* pada tahun 1981, dalam uji sensitivitas antibiotik dengan metode difusi, banyak faktor yang harus diperhatikan, antara lain stabilitas media uji, nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, difusi antibiotik pada media uji, suhu inkubasi, serta pH media uji. Penggunaan *Mueller Hinton* agar sebagai media pokok pada penelitian ini menjadikan keempat media uji (HTM, ACD, ACM, ACMHC) memiliki kestabilan yang sama baiknya. Demikian pula dengan suhu inkubasi dan pH setiap media uji.

ACD merupakan *Mueller Hinton* yang ditambahkan dengan darah domba. Penambahan darah domba ini menjadikan ACD menjadi media yang kaya akan nutrisi untuk pertumbuhan *H.influenzae*. Namun, penambahan darah domba menyebabkan media menjadi lebih padat sehingga difusi antibiotik menjadi terganggu. Selain itu, morfologi eritrosit serta komposisi biokimiawi dalam darah



domba mungkin bisa menghambat difusi antibiotik pada media ini, mengingat difusi antibiotik dipengaruhi oleh kelarutan dalam lemak serta ikatan antibiotik dengan protein dalam darah sehingga zona inhibisi yang terbentuk lebih kecil dari seharusnya yang menyebabkan ketidaksesuaian nilai Kappa.<sup>24</sup>

Darah manusia memiliki banyak faktor inhibisi yang bisa menghambat pertumbuhan *H.influenzae*, antara lain antibodi, komplemen, serta antikoagulan. Penambahan darah manusia pada *Mueller Hinton* menjadikan media ACM lebih padat sehingga akan menghambat difusi antibiotik dan juga pertumbuhan bakteri tidak optimal karena adanya faktor inhibisi tersebut. Pertumbuhan bakteri yang tidak optimal akan mempengaruhi metabolisme dan absorpsi antibiotik oleh bakteri itu sendiri sehingga diameter zona inhibisi yang terbentuk menjadi lebih kecil dari seharusnya. Namun, dalam penelitian ini nilai kesesuaian ACM dengan HTM lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai kesesuaian ACD dengan HTM, yaitu 60% antibiotik yang diuji mencapai >0,80 sedangkan ACD hanya 40% yang mencapai >0,80. Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan morfologi serta komposisi biokimiawi dari eritrosit darah manusia dengan darah domba sehingga difusi antibiotik lebih baik pada media ACM.

Modifikasi agar coklat darah manusia dengan cara pencucian eritrosit sebanyak 4 kali dan penggunaan *packed red cell* (ACMHC) merupakan kombinasi intervensi yang baik. Pencucian eritrosit dapat menghilangkan komplemen serta antibodi yang bersifat antibakteri tanpa merusak substrat penting lainnya, sedangkan penambahan kadar hemoglobin dengan *packed red cell* dapat meningkatkan jumlah faktor V (hemin).<sup>22</sup> Hal ini berpengaruh pada kualitas

pertumbuhan bakteri sehingga dapat tumbuh dengan optimal dan metabolisme bakteri dapat berjalan dengan maksimal. Pada penelitian ini ACMHC memberikan nilai kesesuaian dengan HTM yang sangat tinggi, yaitu  $>0,80$  untuk 100% antibiotik yang diuji.

ACD dan ACMHC merupakan media yang kaya akan nutrisi pertumbuhan *H.influenzae* dan keduanya merupakan media yang memiliki kepadatan yang lebih bila dibandingkan dengan HTM. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa media ACMHC memiliki performa yang lebih baik dari ACD. Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan morfologi eritrosit dan komposisi biokimiawi antara darah domba dan darah manusia. Mengacu pada difusi antibiotik yang dipengaruhi oleh kelarutan dalam lemak dan ikatan obat dengan protein<sup>24</sup>, mungkin komposisi lemak dan protein pada darah manusia lebih memungkinkan antibiotik untuk berdifusi dibandingkan dengan darah domba.

Pada penelitian ini hasil zona inhibisi yang terbentuk dari media modifikasi, yaitu ACD, ACM, ACMHC lebih kecil dari HTM. Hal ini sejalan dengan penelitian Barry AL, dkk pada tahun 2001 yang 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.

Kemudahan dalam penyediaan bahan dasar agar colat darah manusia dengan modifikasi, yaitu darah manusia, mejadikan media ini mudah dibuat dan membutuhkan biaya produksi yang minimal.

Tabel 5. Perbandingan harga media HTM, ACD, ACMHC untuk tiap plate

HTM	ACD	ACMHC
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,-

Jika dibandingkan dengan media standar uji sensitivitas antibiotik terhadap *H.influenzae* (HTM), media modifikasi ini memiliki biaya produksi 83% lebih hemat, dan 55% lebih hemat dibandingkan agar cokelat darah domba (ACD).

## BAB VII

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Media agar coklat darah domba (ACD) dan media agar coklat darah manusia tanpa modifikasi (ACM) memiliki nilai kesesuaian yang buruk dengan media standar (HTM).
2. Media agar coklat darah manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit sebanyak 4 kali dan penambahan kadar hemoglobin dengan menggunakan *packed red cell* (ACMHC) memiliki nilai kesesuaian yang sangat baik dengan media standar (HTM).
3. Media agar coklat darah manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit sebanyak 4 kali dan penambahan kadar hemoglobin dengan menggunakan *packed red cell* (ACMHC) mampu digunakan sebagai media alternatif untuk uji sensitivitas antibiotik terhadap *Haemophilus influenzae*.
4. Media agar coklat darah manusia dengan modifikasi pencucian eritrosit sebanyak 4 kali dan penambahan kadar hemoglobin dengan menggunakan *packed red cell* (ACMHC) lebih ekonomis jika dibandingkan dengan *Haemophilus Test Media* (HTM) dan agar coklat darah domba (ACD).

## 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut 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 ACMC, ACMHb, dan ACMCHb sebagai media uji sensitivitas, diharapkan uji standar rutin terhadap *Haemophilus influenzae* dapat dilakukan mengingat *Haemophilus influenzae* merupakan patogen penting.

## DAFTAR PUSTAKA

1. *Generic protocol for population-based surveillance of Haemophilus influenzae type B*. World Health Organization. 1997. WHO/VRD/GEN/95.05.
2. WHO. Haemophilus influenzae Type B (HiB)(internet). c2005(diupdate tahun 2005 Desember; diakses pada 5 Desember 2011). Dapat diakses di : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs294/en/index.html>
3. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta (Indonesia) : *Jendela Epidemiologi*; 2010
4. Mansjoer, Arief, dkk. *Kapita Selekta Kedokteran, Edisi III Jilid II*. Jakarta :Media Aeskulapius FKUI ; 2000
5. Elma Krumwiede And Ann G. Kuttner, M.D. *A Growth Inhibitory Substance For The Influenzae Group Of Organisms In The Blood Of Various Animal Species The Use Of]~ The Blood 01~ Various Animals As A Selective Medium For The Detection Of Hemolytic Streptococci In Throat Cultures*. 1973
6. Wikipedia. *Complement System*. c2012[di-update pada Februari 2012; diakses pada 9 Februari 2012]. Dapat diakses di : [http://en.wikipedia.org/wiki/Complement\\_system](http://en.wikipedia.org/wiki/Complement_system)
7. Qingyou Li, Marcia Gordon, Chuanhai Cao, Kenneth E Ugen' and DaveMorga. *Improvement of a low pH antigen-antibody dissociation procedure for ELISA measurement of circulating anti-A $\beta$  antibodies*. at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/8/22>
8. Kuhnert P, Christensen H (editors). *Pasteurellaceae: Biology, Genomics and Molecular Aspects*. Caister Academic Press. 2008. ISBN 978-1-904455-34-9.

9. Jawetz, Melnick, and Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan oleh Huriawati Hartanto...(et al). 2007. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2004.
10. Ryan KJ, Ray CG (editors). *Sherris Medical Microbiology (4<sup>th</sup> ed.)*. McGraw Hill. Pp. 396 – 401. 2004. ISBN 0838585299.
11. Kenneth, T., *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. [di-update pada 2008 ; diakses pada 9 februari 2012]. Dapat diakses di : <http://textbookofbacteriology.net/haemophilus.html>
12. Clinical Microbiology II, Class Lecture. NSCC, 2010
13. Koneman, E.W., Stephen D. Allen et al. *Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology (2<sup>nd</sup> ed.)*. J.B. Lippincott Company; 1986.
14. Hemin at Dorland's Medical Dictionary
15. Wikipedia. *Nicotinamide Adenine Dinukleotida*. c2011[di-update pada Desember 2011; diakses pada 11 Januari 2012]. Dapat diakses di [http://en.wikipedia.org/wiki/Nicotinamide adenine dinucleotide](http://en.wikipedia.org/wiki/Nicotinamide_adenine_dinucleotide)
16. Forbes, B., Sahm, D. and Weissfeld, A. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 2007.
17. Vandepitte, J. Verhaegen, et al. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis Ed.2*. Terjemahan oleh Lyana Setiawan. Jakarta:EGC.2010
18. Vandepitte, J., J.Verhaegen, et all. *Basic Laboratory Procedures in Clinical Biology, 2<sup>nd</sup> Ed.* : 105. WHO. 2003.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, M100-S16 Vol.26, No. 3, CLSI, Villanova, Pa., 2007.
20. Yeh, E., Benjamin A. Pinsky, Niaz Banaei, Ellen Jo Baron. *Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Tests*

21. Brune, T., K. Hannemann-Pohl, K. Nißle, N. Ecker, and H. Garritsen. *Quality, Stability, and Safety Data of Packed Red Cells and Plasma Processed by Gravity Separation Using a New Fully Integrated Hollow-Fibre Filter Device*. 2009.
22. Jurnal Sains Kimia (Journal of Chemical Science) volume 7, nomor 2:44:50. Universitas Sumatra Utara. 2003.
23. Wood and Washington. In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology, 6th ed.* American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1995.
24. Setiawati Arini, Suyatna F.D., Gan Sulistia. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5: 2*. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2007.
25. Mueller J. H. and Hinton Jane. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 48. 330-333. 1941.
26. Cohen J. Weighted kappa: *Nominal Scale Agreement with Provision for Scaled Disagreement or Partial Credit*. *Psychological Bulletin* . 70:213-20. 1968
27. Wikipedia. *Hemoglobin*. c2011[di-update pada Desember 2011; diakses pada 11 Januari 2012]. Dapat diakses di <http://id.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin>



Lampiran 1. *Ethical clearance*

	<p align="center"><b>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)</b>  <b>FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO</b>  <b>DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG</b>          Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3          Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang          Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905</p>	
<p align="center"><b>ETHICAL CLEARANCE</b>  <b>No. 271/EC/FK/RSDK/2012</b></p>		
<p>Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah USULAN Penelitian :</p>		
Peneliti I	:	Radith Aulia
Judul Penelitian	:	<b>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></b>
Peneliti II	:	Duta Indriawan
Judul Penelitian	:	<b>Pengaruh Pencucian Eritrosit secara Intensif pada Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Alternatif Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap <i>Haemophilus influenzae</i></b>
Peneliti III	:	Anisa Rizka
Judul Penelitian	:	<b>Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia dengan Peningkatan Kadar Hemoglobin sebagai Media Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap <i>Haemophilus influenzae</i></b>
Penelitian	:	Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FK Undip
Pembimbing	:	dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A
<p>Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2004.</p>		
<p>Peneliti harus melampirkan 2 kopi lembar Informed consent yang telah disetujui dan ditandatangani oleh peserta penelitian pada laporan penelitian.</p>		
Fakultas Kedokteran Undip Dekan	Semarang, 27 Juli 2012 Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Undip/RS. Dr. Kariadi Sekretaris	
 <b>dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K)</b> NIP. 19560806 198503 2 001	 <b>Prof. dr. Siti Fatimah Muis, M.Sc, Sp.GK</b> NIP. 13036806700	

Lampiran 2. Diameter zona inhibisi antibiotik pada berbagai macam media uji

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	ACM	ACMHbC	HTM	ACD	ACM	ACMHbC
atcc	19.00	19.00	19.00	18.50	resisten	resisten	resisten	resisten
atcc	20.00	16.00	15.00	17.00	sensitif	resisten	resisten	resisten
c171	25.00	28.00	20.00	25.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	28.00	20.00	24.00	26.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	29.00	27.00	24.00	25.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	32.00	24.00	26.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	40.00	32.00	31.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	35.00	40.00	30.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	29.00	25.00	25.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	27.00	23.00	23.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	35.00	30.00	28.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	37.00	29.00	29.00	29.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	24.00	22.00	24.00	23.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	22.00	25.00	22.00	24.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	30.00	24.00	26.00	24.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	24.00	24.00	27.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	36.00	35.00	30.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	36.00	35.00	33.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	21.00	20.00	19.00	20.00	sensitif	sensitif	resisten	sensitif
c128	21.00	19.00	22.00	22.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c241	19.00	17.00	17.00	19.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	19.00	17.00	17.00	18.00	resisten	resisten	resisten	resisten

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik tetrasiklin pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Tetrasiklin berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACM	ACMHbC	HTM	ACD	ACM	ACMHbC
atcc	19.00	18.00	17.00	16.00	resisten	resisten	resisten	resisten
atcc	20.00	15.00	18.00	16.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c171	31.00	29.00	30.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	34.00	27.00	34.00	30.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c104	38.00	29.00	29.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	35.00	27.00	30.00	30.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c173	34.00	34.00	32.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	32.00	31.00	29.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	31.00	28.00	30.00	30.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c120	32.00	28.00	29.00	29.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c086	36.00	28.00	32.00	31.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c086	37.00	36.00	31.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	30.00	26.00	26.00	24.00	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	26.00	sensitif	resisten	sensitif	resisten
c107	36.00	30.00	32.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	36.00	33.00	34.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	18.00	18.00	17.00	16.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c128	20.00	17.00	21.00	18.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	17.00	16.00	17.00	17.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	18.00	16.00	20.00	18.00	resisten	resisten	resisten	resisten

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Seftriakson pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Seftriakson berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACM	ACMHbC	HTM	ACD	ACM	ACMHbC
atcc	33.00	23.00	35.00	33.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
atcc	33.00	25.00	30.00	30.00	sensitif	resisten	sensitif	sensitif
c171	28.00	30.00	26.00	26.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	25.00	22.00	32.00	25.00	resisten	resisten	sensitif	resisten
c104	41.00	30.00	31.00	26.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	40.00	30.00	31.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	45.00	45.00	42.00	43.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	46.00	45.00	40.00	42.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	35.00	32.00	32.00	36.00	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	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	27.00	31.00	32.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	31.00	32.00	32.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	30.00	32.00	35.00	33.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	46.00	34.00	34.00	42.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	46.00	35.00	37.00	42.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	36.00	37.00	34.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	34.00	34.00	37.00	37.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	25.00	23.00	21.00	25.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c241	25.00	22.00	24.00	25.00	resisten	resisten	resisten	resisten

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Kloramfenikol pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Kloramfenikol berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACM	ACMHbC	HTM	ACD	ACM	ACMHbC
atcc	37.00	30.00	35.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
atcc	36.00	32.00	30.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	37.00	31.00	33.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	40.00	35.00	36.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	43.00	35.00	34.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	38.00	34.00	34.00	37.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	40.00	38.00	36.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	40.00	33.00	35.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	28.00	30.00	25.00	25.00	resisten	sensitif	resisten	resisten
c120	26.00	22.00	26.00	24.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c086	35.00	38.00	38.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	41.00	36.00	37.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c070	27.00	25.00	28.00	25.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c070	25.00	27.00	25.00	28.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c141	33.00	32.00	30.00	30.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	34.00	32.00	30.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	41.00	34.00	36.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c107	40.00	36.00	38.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	41.00	36.00	38.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	42.00	35.00	40.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	40.00	34.00	34.00	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	40.00	33.00	32.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif

Strain <i>Haemophilus influenzae</i>	Diameter zona inhibisi antibiotik Kotrimoksazol pada berbagai media				Interpretasi diameter zona inhibisi antibiotik Kotrimoksazol berdasarkan CLSI			
	HTM	ACD	ACM	ACMHbC	HTM	ACD	ACM	ACMHbC
atcc	32.00	30.00	35.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
atcc	15.00	15.00	15.00	15.00	resisten	resisten	resisten	resisten
c171	29.00	26.00	30.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c171	29.00	21.00	34.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	32.00	32.00	29.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c104	38.00	26.00	27.00	35.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	38.00	39.00	38.00	38.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c173	38.00	40.00	38.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	33.00	31.00	33.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c120	32.00	32.00	32.00	32.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c086	37.00	36.00	37.00	37.00	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	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	32.00	32.00	34.00	31.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c141	30.00	34.00	35.00	32.00	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	34.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c128	37.00	25.00	37.00	36.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	16.00	16.00	22.00	19.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif
c241	16.00	34.00	34.00	20.00	sensitif	sensitif	sensitif	sensitif

Lampiran 3. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik amoksisilin-asam klavulanat pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
amocl_htm_ord * amocl_acd_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
amocl_htm_ord * amocl_acm_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
amocl_htm_ord * amocl_acmchb_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%

#### amocl\_htm\_ord \* amocl\_acd\_ord

#### Crosstab

Count

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

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

### amocl\_htm\_ord \* amocl\_acm\_ord

**Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

### amocl\_htm\_ord \* amocl\_acmchb\_ord

**Crosstab**

Count

		amocl_acmchb_ord		Total
		resisten	sensitif	
amocl_htm_ord	resisten	3	0	3
	sensitif	1	18	19
Total		4	18	22



**Symmetric Measures**

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

Lampiran 4. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik tetrasiklin pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
tetra_htm_ord * tetra_acd_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
tetra_htm_ord * tetra_acm_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
tetra_htm_ord * tetra_acmHb_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%

#### tetra\_htm\_ord \* tetra\_acd\_ord

#### Crosstab

Count

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

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

**tetra\_htm\_ord \* tetra\_acm\_ord****Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

**tetra\_htm\_ord \* tetra\_acmHb\_ord****Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

	Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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 5. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik kotrimoksazol pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
kotri_htm_ord * kotri_acd_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
kotri_htm_ord * kotri_acm_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
kotri_htm_ord * kotri_acmchb_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%

#### kotri\_htm\_ord \* kotri\_acd\_ord

#### Crosstab

Count

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

#### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

**kotri\_htm\_ord \* kotri\_acm\_ord****Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

**kotri\_htm\_ord \* kotri\_acmHb\_ord****Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

Lampiran 6. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik seftriakson pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
seft_htm_ord * seft_acd_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
seft_htm_ord * seft_acm_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
seft_htm_ord * seft_acmcHb_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%

**seft\_htm\_ord \* seft\_acd\_ord**

**Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.



**seft\_htm\_ord \* seft\_acm\_ord****Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

**seft\_htm\_ord \* seft\_acmHb\_ord****Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

Lampiran 7. Data kesesuaian uji kepekaan antibiotik kloramfenikol pada media ACD, ACM, ACMHC dengan HTM

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
klor_htm_ord * klor_acd_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
klor_htm_ord * klor_acm_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%
klor_htm_ord * klor_acmcHb_ord	22	100.0%	0	.0%	22	100.0%

**klor\_htm\_ord \* klor\_acd\_ord**

**Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

### klor\_htm\_ord \* klor\_acm\_ord

**Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

### klor\_htm\_ord \* klor\_acmHb\_ord

**Crosstab**

Count

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

**Symmetric Measures**

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	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.

## Lampiran 8. Dokumentasi penelitian



Persiapan alat dan bahan



Pembuatan Berbagai Media Agar



Menumbuhkan koloni kuman Murni



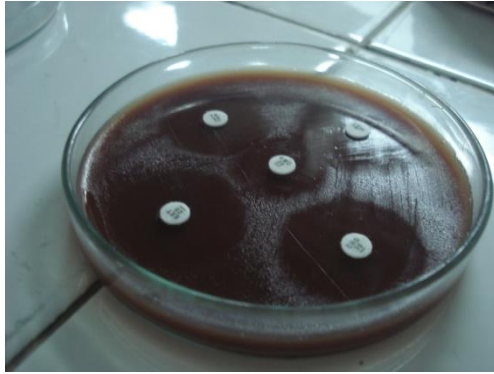
Streak kuman 0,5 McFarland pada berbagai media agar



Penanaman antibiotik



Inkubasi selama 24 jam



Pengukuran Diameter zona inhibisi

### Lampiran 9. Biodata mahasiswa

Nama : Radith Aulia  
 NIM : G2A008148  
 Tempat/tanggal lahir : Pekalongan/30 April 1990  
 Jenis kelamin : Laki-laki  
 Alamat : Jalan Menoreh Utara XII no 9 Sampangan, Semarang  
 Nomor Telpon : -  
 Nomor HP : 0853 8553 8773  
 e-mail : dr.radithaulia@yahoo.com

### Riwayat Pendidikan Formal

- |               |                            |             |        |
|---------------|----------------------------|-------------|--------|
| 1. SD         | : SDN Medono 07 Pekalongan | Lulus tahun | : 2002 |
| 2. SMP        | : SMP N 1 Pekalongan       | Lulus tahun | : 2005 |
| 3. SMA        | : SMA N 1 Pekalongan       | Lulus tahun | : 2008 |
| 4. FK UNDIP : |                            | Masuk tahun | : 2008 |

### Keanggotaan Organisasi

- |  |                     |
|--|---------------------|
| 1. Bidang PSDM Badan Eksekutif Mahasiswa   | Tahun 2008 s/d 2010 |
| 2. Koordinator Bidang Elit Profesional BEM | Tahun 2008s/d 2011  |

### Pengalaman penelitian

1. Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Haemophilus influenzae*. Tahun 2012.

### Pengalaman presentasi karya ilmiah

1. Radith Aulia. Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Haemophilus influenzae*. Dikti. 2012. Cara presentasi oral

### Pengalaman mengikuti lomba karya ilmiah

1. Radith Aulia. Optimalisasi Agar Coklat Darah Manusia sebagai Media Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Haemophilus influenzae*, Dikti, prestasi (didanai Dikti)