

BAB IV

4.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin dan Mikrobiologi.

4.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di Griya ASA PKBI Kota Semarang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro RSUP Dr. Kariadi Semarang Griya ASA PKBI Kota Semarang pada bulan April – Juni 2015.

4.3 Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian analitik observasional dengan rancangan *cross sectional*.

4.4 Populasi dan sampel

4.4.1. Populasi target

Populasi target penelitian ini adalah pasien dengan positif duh purulen

4.4.2. Populasi terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien dengan positif duh purulen di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP dr. Kariadi Semarang dan Griya ASA PKBI Kota Semarang.

4.4.3. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah pasien penderita gonore.

4.4.3.1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

- Penderita dengan duh purulen yang ditemukan kuman diplokokus gram negatif pada pemeriksaan pengecatan gram.
- Bersedia mengikuti penelitian ini.
- Penderita tidak mendapat terapi antibiotik 7 hari sebelum pemeriksaan.

4.4.3.2. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi penelitian ini adalah:

- Kultur tidak tumbuh

4.4.4. Cara sampling

Pemilihan subyek penelitian dilakukan dengan cara *consecutive sampling* yakni berdasarkan kedatangan subyek penelitian di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP dr. Kariadi Semarang dan Griya ASA PKBI Kota Semarang. Pasien yang

sesuai dengan kriteria penelitian telah dipakai sebagai subyek penelitian. Pengambilan sampel dihentikan setelah jumlah sampel terpenuhi.

4.4.5. Besar sampel

Besar sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus besar sampel untuk beda proporsi 2 kelompok berpasangan:

$$n = \frac{(Z\alpha\sqrt{f} + Z\beta\sqrt{f-d^2})^2}{d^2}$$

n = jumlah sampel

α = kesalahan tipe I : 20% $Z\alpha = 1,282$

β = kesalahan tipe II : 20% $Z\beta = 0,842$

f = P1-P2 = 0,4

d (beda proporsi klinis yang penting) = 0,39

Hasil perhitungan:

$$\begin{aligned} n1 = n2 &= \frac{(1,282\sqrt{0,4} + 0,842\sqrt{0,4-0,39^2})^2}{(0,39)^2} \\ &= \frac{1,8}{(0,39)^2} = 11,83 \\ &= 12 \end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan sampel maka besar sampel yang dipakai dalam penelitian ini sebanyak 12 anggota/media tiap kelompok.

Kemungkinan *drop out*, maka dipersiapkan cadangan sampel sebanyak 10% untuk setiap kelompok $(10\% \times 12) + 12 = 13,2$ dibulatkan menjadi 13. Sehingga jumlah seluruh sampel adalah 13.

Keterangan:

P1 didapatkan berdasarkan referensi:

- Yosse Rizal (2011)¹⁷
- Hamid, Dirk Runtubo, dan Lucky (2014)³⁰

4.5. Variabel penelitian

4.5.1. Variabel bebas

- Kanamisin
- Seftriakson

4.5.2. Variabel terikat

Kuman *Neisseria gonorrhoeae*

4.6. Definisi operasional

No	Variabel	Skala
1	Kanamisin golongan aminoglikosida yang memiliki kerja untuk menghambat sintesa protein kuman	Nominal
2	Seftriakson golongan sefalosporin generasi ketiga yang memiliki kerja untuk menghambat sintesis dinding sel kuman	Nominal
3	Penyakit gonore salah satu infeksi menular seksual yang disebabkan oleh <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , yaitu bakteri diplokokus gram negatif yang aerob	Nominal
4	Sensitif	Nominal

	- Kanamisin: apabila terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter ≥ 14 mm ³¹	
	- Seftriakson : apabila terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter ≥ 35 mm	
5	Tidak Sensitif	Nominal
	- Kanamisin: apabila terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter < 14 mm	
	- Seftriakson: apabila terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter < 35 mm	

Tabel 2. Definisi operasional

4.7. Cara pengumpulan data

4.7.1 Bahan

- Reagen pengecatan gram :
 - Karbol gentian violet
 - Larutan lugol
 - Alkohol 96%
 - Air fukhsin (safranin)
- Disk antibiotik kanamisin
- Disk antibiotik Seftriakson
- Media Thayer Martin
 - Pancreatic Digest of Casein 7.5 g
 - Agar 12.0 g
 - Selected Meat Peptone 7.5 g
 - Hemoglobin 10.0 g

- Corn Starch 1.0 g
 - *IsoVitaleX*TM Enrichment 10.0 mL
 - Dipotassium Phosphate 4.0 g
 - V-C-N Inhibitor 10.0 mL
 - Monopotassium Phosphate 1.0 g
 - Trimethoprim Lactate 5.0 mg
 - Sodium Chloride 5.0 g
- Media Mueller Hinton Agar
- *Meat infusion* 5 gr
 - *Casein hydrolysis* 17,5 gr
 - Amilum 1,5 gr
 - Agar-agar 12,5 gr
 - Aquadest 1000 ml
 - pH 7,2-7,6
- Larutan Mc Farland 0,5
- H₂SO₄ 1% 99,5 gr
 - BaCl 1,175 % 0,05 ml

4.7.2 Alat

- *Cotton swab*
- *Cotton-tipped swab*
- Spekulum

- Osse
- Lampu spirtus
- *Object glass*
- Mikroskop
- Pinset

4.7.3 Jenis data

Data yang dikumpulkan adalah merupakan data primer hasil penelitian, yaitu sensitif atau tidaknya biakan kuman *Neisseria gonorrhoeae* terhadap kanamisin dan seftriakson yang dilihat dari ukuran diameter zona hambat yang terbentuk.

4.7.4 Cara kerja

4.7.4.1 Pengambilan spesimen

1. Pasien diminta membuka pakaian dalamnya agar dapat dilakukan pemeriksaan genitalnya.
2. Pada pasien wanita diminta berbaring dengan posisi litotomi, sedangkan pasien pria dengan posisi duduk atau berdiri.
3. Pemeriksa harus selalu menggunakan sarung tangan selama pemeriksaan.
4. Dilakukan pengambilan duh tubuh genital
 - Pria

Duh tubuh diambil dengan osse yang telah dibakar sampai membara dan didinginkan kembali. Masukkan osse melalui orifisium uretra eksternum sedalam 1-2 cm untuk pembuatan sediaan hapus (yang akan diwarnai dengan pewarnaan gram), maupun biakan. Pasien diminta tidak kencing selama 3 jam sebelum pengambilan spesimen.

- Wanita (pemeriksaan *in spekulo*)
 - Menjelaskan kepada pasien tentang tindakan yang akan dilakukan
 - Pemeriksa mencuci tangan lalu memakai sarung tangan sebelum pemeriksaan.
 - Jika didaerah vulva banyak duh tubuh, bersihkan dahulu dengan KMnO₄ atau cairan sublimat.
 - Setiap pengambilan spesimen harus menggunakan spekulum/swab steril.
 - Mengambil spekulum cocor bebek steril dengan tangan kanan.
 - Membuka labia mayora dengan tangan kiri, lalu masukkan spekulum dalam keadaan tertutup dan posisi tegak/vertikal ke dalam vagina (90°).
 - Spekulum dimasukkan pelan-pelan sampai ujung dan diputar perlahan-lahan sambil membuka mulut spekulum sehingga posisi mendatar/horizontal (180°).

- Buka spekulum dengan bantuan lampu sorot vagina. Setelah ditemukan portio serviks, kunci spekulum pada posisi itu sehingga serviks terfiksasi.
- Amati apakah ada duh tubuh vagina atau serviks bersamaan dengan memasukkan spekulum.
- Setelah itu dilakukan pemeriksaan vagina dan pengambilan spesimen dengan swab steril dari serviks (sediaan basah dan hapus, dengan swab lain untuk biakan), fornix posterior (sediaan basah dan Tes Amin), dinding vagina (sediaan basah dan hapus) dan uretra (sediaan basah dan hapus).
- Cara melepas spekulum: kunci spekulum dilepas, sehingga spekulum dalam posisi tertutup, putar spekulum 90° sehingga daun spekulum dalam posisi tegak, dan keluarkan spekulum perlahan-lahan
- Masukkan spekulum ke dalam larutan Klorin 8%.³²

4.7.4.2 Pengecatan gram

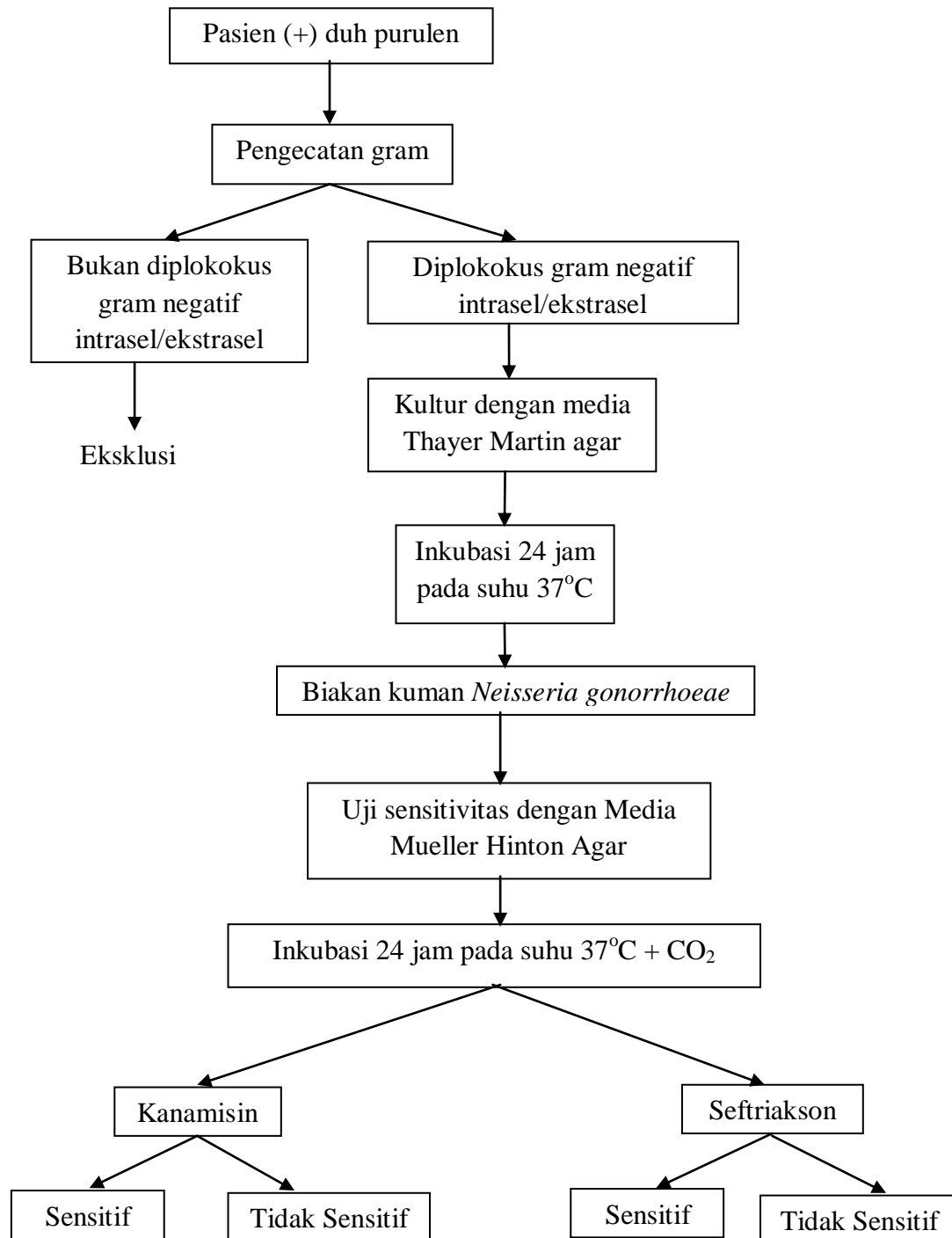
1. Spesimen yang sudah diambil dioleskan pada *object glass*. Sediaan diwarnai dengan karbol gentian violet selama 5 menit.
2. Karbol gentian violet dibuang dan diganti dengan larutan lugol dibiarkan selama 45-60 detik.
3. Larutan lugol dibuang dan dicuci dengan alkohol 96% selama 30 detik atau digoyang-goyangkan sampai tidak ada zat warna yang mengalir lagi.

4. Dicuci dengan air dan diwarnai dengan air fukhsin selama 1-2 menit. Sediaan dicuci, dikeringkan, diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x.
5. Apabila positif akan ditemukan diplokokus gram negatif intrasel dan ekstrasel.³³

4.7.4.3 Kultur dan uji sensitivitas

1. Duh tubuh yang positif diplokokus gram negatif di kultur menggunakan media Thayer Martin agar, dibiakkan selama 18-24 jam pada suhu kamar (37°C).
2. Setelah tumbuh koloni, ambil koloni tersebut dengan osse. Kemudian di oleskan pada media Mueller hinton agar.
3. Sesuaikan densitas dari suspensi bakteri yang disesuaikan dengan densitas dari standard Mc Farland 0,5.
4. Dalam waktu 15 menit setelah penyesuain suspense bakteri, masukkan *cotton-tipped swab* ke dalam suspensi. Lalu putar swab pada dinding dari media dan *men-streak* permukaan dari media Mueller hinton agar.
5. Swab permukaan sebanyak 3 kali, masing-masing putaran media 60°.
6. Lakukan inokulasi 3-5 menit, tetapi tidak lebih dari 15 menit supaya kering.
7. Masukkan disk antibiotik pada permukaan agar. Jangan pindahkan disk setelah menyentuh permukaan agar.
8. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, melakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan penggaris. Diamater dapat diukur dari permukaan media atau melalui dasar dari media.³⁴

4.8 Alur penelitian



Gambar 6. Alur penelitian

4.9 Analisis data

Data yang telah dikumpulkan diedit, dikoding, ditabulasi, dan enterung. Analisa data dalam penelitian ini meliputi analisa deskriptif dan uji hipotesis menggunakan *chi square* (uji X^2) dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ dengan uji alternatif adalah *fisher exact test*. Data diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 21,00 *for windows*.

4.10 Etika penelitian

Penelitian ini telah dimintakan persetujuan dan *ethical clearance* ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atau RSUP Dr. Kariadi Semarang. Seluruh calon subyek penelitian diberikan penjelasan lengkap mengenai prosedur penelitian, tujuan dan manfaat penelitian. Persetujuan penelitian telah diberi dalam bentuk *informed consent* tertulis. Calon subyek penelitian berhak menolak untuk diikutsertakan dalam penelitian ataupun keluar dari penelitian. Subyek yang menolak untuk diikutsertakan dalam penelitian tetap mendapat pengobatan yang dibutuhkan sesuai dengan protap gonore. Identitas subyek penelitian telah dirahasiakan dan tidak akan dipublikasikan tanpa seijin subyek penelitian. Biaya penelitian telah ditanggung seluruhnya oleh peneliti. Seluruh subyek penelitian telah diberikan imbalan sesuai dengan kemampuan peneliti.

4.11 Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan	1				2				3				4				5				6			
	Minggu	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Studi Literatur dan Penyusunan Proposal		■																							
Seminar Proposal										■															
Penelitian																									
Analisis data dan penulisan laporan																									
Seminar Hasil																									

Tabel 3. Jadwal penelitian