

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini termasuk dalam bidang Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin dan Mikrobiologi.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Tembalang Semarang dan Gria ASA PKBI kota Semarang pada bulan Maret sampai dengan Juni 2016.

#### **3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

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

#### **3.4 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **3.4.1 Populasi Target**

Populasi target penelitian ini adalah pasien wanita dengan positif duh purulen.

##### **3.4.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien dengan positif duh purulen di Gria ASA PKBI Kota Semarang.

### **3.4.3 Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah pasien wanita penderita gonore.

#### **3.4.3.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

- Penderita dengan duh purulen yang teridentifikasi gonore pada pemeriksaan pengecatan gram
- Bersedia mengikuti penelitian ini
- Penderita tidak mendapat antibiotik 3 hari sebelum pemeriksaan

#### **3.4.3.2 Kriteria Eksklusi**

- Penderita tidak kooperatif atau menolak diikutsertakan dalam penelitian.
- Penderita yang tidak teridentifikasi gonore
- Kultur tidak tumbuh

### **3.4.4 Cara Sampling**

Pemilihan subyek penelitian dilakukan dengan cara *consecutive sampling* yakni berdasarkan kedatangan subyek penelitian di Griya ASA PKBI Kota Semarang. Pasien yang sesuai dengan kriteria penelitian akan dipakai sebagai subyek penelitian. Pengambilan sampel dihentikan setelah jumlah sampel terpenuhi.

### 3.5 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot P_0 \cdot Q_0 + Z_{\beta}^2 \cdot P_a \cdot Q_a}{(P_a - P_0)^2}$$

$$n = \frac{1,96^2 \cdot 0,40 \cdot 0,60 + 0,842^2 \cdot 0,55 \cdot 0,45}{(0,55 - 0,40)^2}$$

$$n = 54$$

Keterangan :

n = besar sampel yang diperlukan

$Z_{\alpha}$  = derivat baku normal  $\alpha = 1,960$

$Z_{\beta}$  = derivat baku normal  $\beta = 0,842$

$P_0$  = Proporsi kolonisasi *Neisseria gonorrhoeae* (0,40)

$P_a$  = Clinical judgement (0,40+0,15 = 0,55)

$$Q_0 = 1 - P_0$$

$$Q_a = 1 - P_a$$

### 3.6 Variabel Penelitian

#### 3.6.1 Variabel Terikat

Kuman *Neisseria gonorrhoeae*.

#### 3.6.2 Variabel Bebas

Seftriakson dan Levofloksasin

### 3.7 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	<b>Seftriakson</b> Golongan sefalosporin generasi ketiga yang memiliki kerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel kuman.		Nominal
2.	<b>Levofloksasin</b> Golongan fluorokuinolon yang bekerja dengan cara menghambat replikasi dan transkripsi kuman.		Nominal
3.	<b>Penyakit Gonore</b> Salah satu infeksi menular seksual yang disebabkan oleh <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , yaitu kuman diplokokus gram negatif.		Nominal
4.	<b>Sensitivitas seftriakson</b> Diukur dengan diameter zona hambat pada media Mueller Hinton. Sensitif: Diameter zona hambat $\geq 35\text{mm}^{33}$ Tidak sensitif: diameter zona hambat $\leq 35\text{mm}^{33}$		Nominal
5.	<b>Sensitivitas levofloksasin</b> diukur dengan diameter zona hambat pada media Mueller Hinton. Sensitif : diameter zona hambat $\geq 36\text{mm}^{33}$ Tidak sensitif : diameter zona hambat $\leq 36\text{mm}^{33}$		Nominal

### 3.8 Cara Pengumpulan Data

#### 3.8.1 Bahan

1. Biakan positif kuman *Neisseria gonorrhoeae* pada media Thayer Martin
2. Media Thayer Martin
3. Media Muiler Hinton Agar
4. Disk antibiotik Seftriakson
5. Disk antibiotik Levofloksasin
6. Reagen pengecatan Gram yang terdiri dari:
  - Gram A ( Karbol Gentian Violet )
  - Gram B ( Lugol )
  - Gram C ( Alkohol 96% )
  - Gram D ( Air Fusion )

Susunan media Thayer Martin:

- Mueller hinton agar
- 5% Coklat agar dengan darah domba
- Antibiotik ( Vankomisin, kolistin, nistatin dan trimetoprim )

Susunan media Mueller Hinton :

- Beef infusion 150gr
- Casamino acid 8,75gr
- Amilum 0,75gr
- Agar-agar 8,5gr
- Aquadest 500ml

Susunan media Mc Farland 0,5:

- Barium klorida 1% 0,05ml
- Asam sulfat 1% 9,95gr

### **3.8.2 Alat**

- 1) Lidi Kapas
- 2) Spekulum
- 3) Osse
- 4) Lampu spiritus
- 5) Objek glass
- 6) Mikroskop
- 7) Pinset

### **3.8.3 Jenis Data**

Data yang dikumpulkan adalah merupakan data primer hasil penelitian yaitu sensitif atau tidaknya antibiotik Seftriakson dan Levofloksasin terhadap kuman *Neisseria gonorrhoe* pada media coklat agar.

### **3.8.4 Cara Kerja**

#### **3.8.4.1 Cara Pengambilan Sekret**

- 1) Jelaskan kepada pasien tentang tindakan yang akan dilakukan. Pasien dibaringkan di meja ginekologi dalam posisi litotomi.
- 2) Cuci tangan dan gunakan sarung tangan sebelum memulai tindakan.
- 3) Ambil spekulum cocor bebek steril dengan tangan kanan, tangan kiri membuka labia mayora kemudian memasukan spekulum dalam kondisi tertutup dan tegak ke dalam vagina.

- 4) Masukkan spekulum pelan-pelan dan sampai ujung dan putar perlahan sambil membuka spekulum sehingga posisi mendatar.
- 5) Cari portio serviks vagina, setelah ditemukan kunci speculum sehingga portio serviks terfiksasi.
- 6) Mengambil sekret dengan lidi kapas.
- 7) Menyimpan lidi kapas dalam media Thayer Martin yang sudah dimodifikasi dengan cara memasukkan lidi kapas ke dalam tabung.
- 8) Setelah selesai, lepaskan kunci spekulum sehingga spekulum dalam posisi tertutup. Putar speculum sampai dengan posisi tegak lurus, kemudian keluarkan speculum secara perlahan-lahan.<sup>30</sup>

#### **3.8.4.2 Cara Pengecatan Gram**

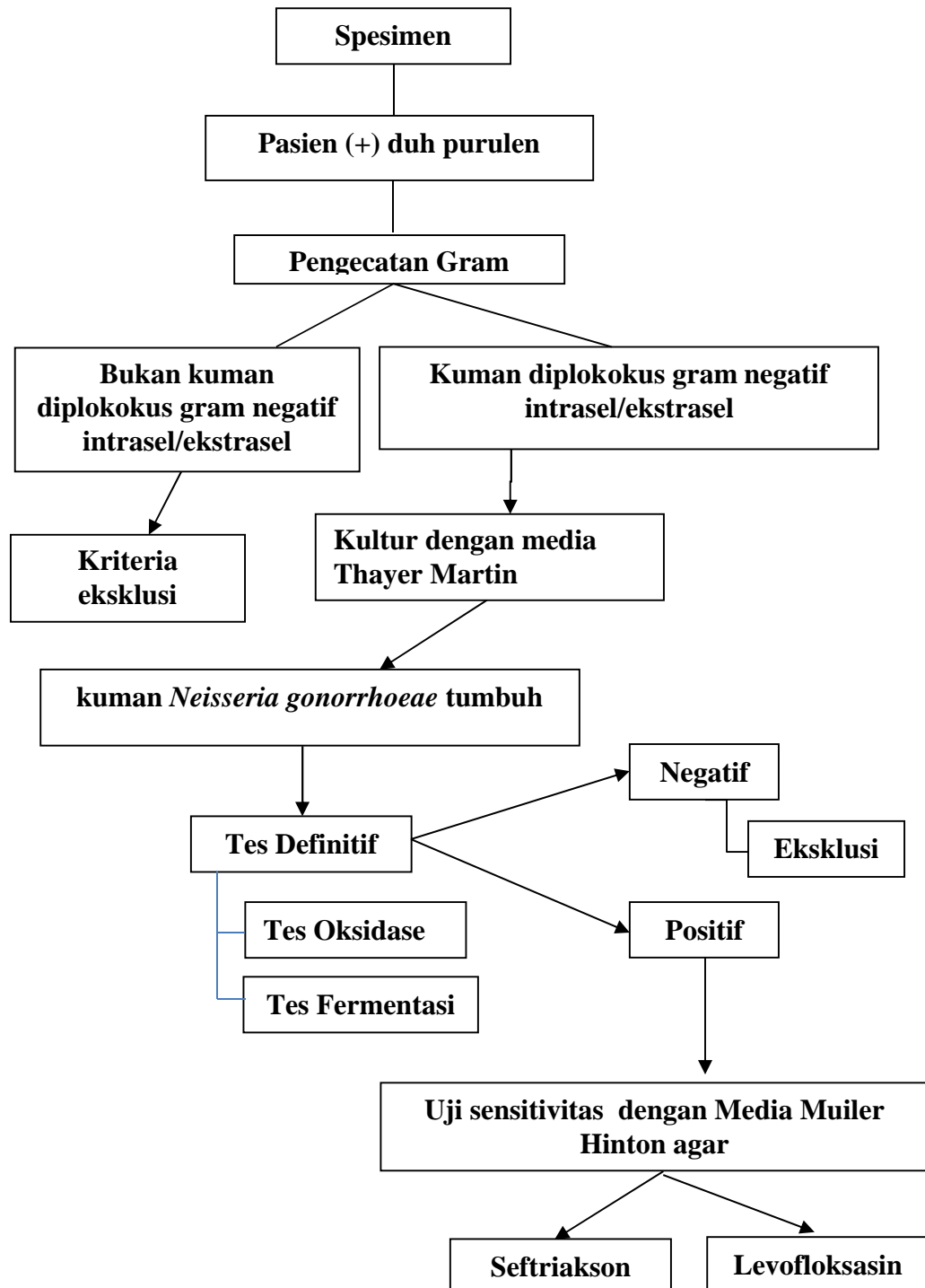
- 1) Memfiksasi sekret yang telah dioleskan pada objek glass.
- 2) Setelah terfiksasi, genangi objek glass dengan Gram A, biarkan selama setengah menit.
- 3) Buang gram A dan alirkan air diatas objek glass.
- 4) Genangi objek glass dengan Gram B. Tunggu selama setengah menit.
- 5) Buang Gram B dan kemudian disuse dengan gram C.
- 6) Cuci dengan air, kemudian dikeringkan dengan tissue.
- 7) Setelah kering, ditetesi dengan minyak emersi pada lapangan pandang yang ingin dilihat, kemudian dilihat dibawah mikroskop dengan menggunakan lensa ukuran 10x100 dengan pembesaran 1000x.
- 8) Apabila positif akan ditemukan diplokokus gram negatif.<sup>30</sup>

### 3.8.4.3 Cara Pemeriksaan Kultur

- 1) Duh tubuh yang telah ditemukan kuman diplokokus gram negatif dikultur dengan menggunakan media Thayer Martin agar, dibiakkan selama 18-24 jam pada suhu kamar ( $37^{\circ}\text{C}$ )
- 2) Setelah tumbuh koloni, koloni tersebut diambil dengan menggunakan 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 penyesuaian suspensi bakteri, masukan *cotton-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  $60^{\circ}$ .
- 6) Lakukan inokulasi 3-5 menit, tetapi tidak lebih dari 15 menit sampai mongering.
- 7) Masukan disk antibiotik pada permukaan agar. Jangan pindahkan disk setelah menyentuh permukaan agar.
- 8) Setelah diinokulasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  , melakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan penggaris. Diameter dapat diukur dari permukaan media ataupun dari dasar media.<sup>30</sup>



## 3.9 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

### 3.10 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  $\chi^2$  ) dengan derajat kemaknaan  $p < 0,05$  dengan uji alternatif adalah *kappa test*. Data diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 18,00 *for windows*.

### 3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan Etichal Clearance dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atau RSUP Dr. Kariadi Semarang. Persetujuan penelitian telah diberikan dalam bentuk informed consent tertulis. Subyek penderita atau calon subyek penelitian telah diberi penjelasan tentang tujuan, manfaat dan prosedur penelitian. Penderita berhak menolak untuk diikut sertakan pada penelitian. Identitas suyek penelitian telah dirahasiakan dan tidak dipublikasikan tanpa seijin subyek peneltian. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian telah ditanggung oleh peneliti.

