

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang lingkup penelitian

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

3.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Griya ASA PKBI Kota Semarang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – Juni 2016.

3.3 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode analitik observasional dengan rancangan *cross sectional design*.

3.4 Populasi dan sampel

3.4.1. Populasi target

Populasi target penelitian ini adalah wanita pekerja seks dengan positif duh endoservik.

3.4.2. Populasi terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah wanita pekerja seks dengan positif duh endoservik di Griya ASA PKBI Kota Semarang.

3.4.3. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah wanita pekerja seks penderita gonore dengan duh endoservik purulen.

3.4.3.1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

- a. Wanita pekerja seks dengan positif duh endoservik yang ditemukan kuman diplokokus gram negatif pada pemeriksaan pengecatan gram.
- b. Bersedia mengikuti penelitian ini.
- c. Wanita pekerja seks tidak mendapat terapi antibiotik 3 hari sebelum pemeriksaan.

3.4.3.2. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi penelitian ini adalah :

- a. Pada kultur tidak tumbuh *Neisseria gonorrhoeae*.
- b. Pasien menolak atau tidak kooperatif mengikuti penelitian ini.
- c. Pasien tidak teridentifikasi gonore.

3.4.4. Cara sampling

Pemilihan subyek penelitian dengan cara *consecutive sampling* yakni berdasarkan kedatangan subyek penelitian di Griya ASA PKBI Kota Semarang. Pengambilan sampel dihentikan setelah jumlah sampel terpenuhi.

3.4.5. Besar sampel

Besar sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus :

Metode perhitungan :

$$n = \frac{(Z\alpha \sqrt{P_0Q_0} + Z\beta \sqrt{P_aQ_a})^2}{(P_a - P_0)^2}$$

$$n = \frac{(1,960 \sqrt{0,4 \times 0,6} + 0,842 \sqrt{0,55 \times 0,45})^2}{(0,55 - 0,40)^2}$$

$$n = 54$$

Keterangan :

n= besar sampel yang diperlukan

Z_α = deviate baku normal $\alpha = 1,960$

Z_β = deviate baku normal $\beta = 0,842$

P_0 = proporsi kolonisasi *Neisseria gonorrhoeae* (0,40)

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

$Q_0 = 1 - P_0$

$Q_a = 1 - P_a$

Dari hasil perhitungan sampel maka besar sampel yang dipakai dalam penelitian ini sebanyak 54 sampel.

Keterangan:

P1 didapatkan berdasarkan referensi:

- Yosse Rizal (2011)¹⁷
- Dayinta Rahma (2015)⁸

3.5. Variabel penelitian

3.5.1. Variabel bebas

Disk antibiotik

3.5.2. Variabel terikat

Pertumbuhan kuman *Neisseria gonorrhoeae*

3.6. Definisi operasional

No	Jenis variabel	Nama variabel	Definisi operasional	Skala	Nilai
1	Variabel bebas	Disk antibiotik	Jenis disk yang digunakan untuk uji kepekaan antibiotik yang diuji	Nominal	1. Seftriakson 2. Siprofloksasin
2	Variabel terikat	Pertumbuhan kuman <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Kepekaan kuman terhadap antibiotik yang diuji 1. Seftriakson: (sensitif) terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter ≥ 35 mm. ¹⁸ (resisten) terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter < 35 mm. ¹⁸ 2. Siprofloksasin (sensitif) terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter ≥ 41 mm. ¹⁸ (resisten) terbentuk zona hambat pada uji sensitivitas dengan diameter < 41 mm. ¹⁸	Nominal	1. Sensitif 2. Resisten

Tabel 2. Definisi Operasional

3.7. Cara pengumpulan data

3.7.1 Bahan

a. Reagen pengecatan gram :

- Karbol gentian violet
- Larutan lugol
- Alkohol 96%
- Air fuchsin (safranin)

b. Disk antibiotik Siprofloksasin

c. Disk antibiotik Seftriakson

d. 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

e. 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

f. Larutan Mc Farland 0,5

- H₂SO₄ 1% 99,5 gr
- BaCl 1,175 % 0,05 ml

3.7.2 Alat

- *Cotton swab*
- *Cotton-tipped swab*
- Spekulum
- Osse
- Lampu spiritus
- *Object glass*
- Mikroskop
- Pinset

3.7.3 Jenis data

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

3.7.4 Cara kerja

3.7.4.1 Pengambilan spesimen¹⁸

1. Wanita pekerja seks diminta membuka pakaian dalamnya agar dapat dilakukan pemeriksaan genitalnya.
2. Wanita pekerja seks diminta berbaring dengan posisi litotomi
3. Pemeriksa harus selalu menggunakan sarung tangan selama pemeriksaan.
4. Dilakukan pengambilan duh endoservik.¹⁸

Pemeriksaan *in spekulo*

- Menjelaskan kepada wanita pekerja seks 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 kemudian duh tubuh ditanam pada media amies.
- Setelah itu dilakukan pengambilan spesimen dengan swab steril dari endoservik
- 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%.¹⁸

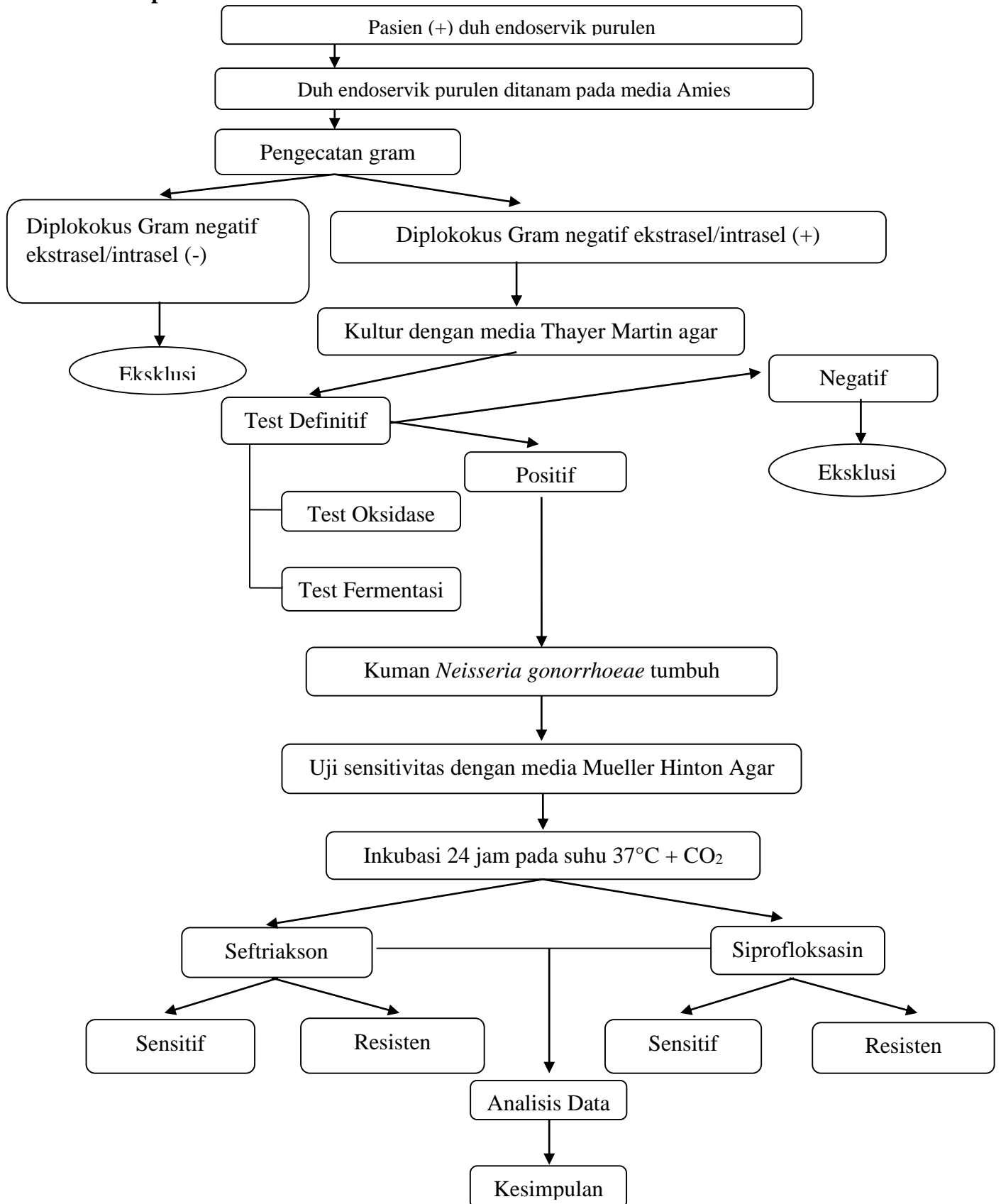
3.7.4.2 Pengecatan gram¹⁹

1. Spesimen yang didapatkan di lokasi penelitian (Griya ASA PKBI Semarang) dioleskan pada *object glass*. Spesimen 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.¹⁹

3.7.4.3 Kultur dan uji sensitivitas^{19,20}

1. Duh endoservik yang didapatkan di lokasi penelitian (Griya ASA PKBI Semarang) yang positif diplokokus gram negatif di kultur menggunakan media Thayer Martin agar, dibiakkan selama 18-24 jam pada suhu kamar (37⁰C).
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. Pasang disk antibiotik pada permukaan agar. Jangan pindahkan disk setelah menyentuh permukaan agar.
8. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C, melakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan penggaris. Diamater dapat diukur dari permukaan media atau melalui dasar dari media.^{19,20}

3.8 Alur penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

3.9 Analisis data

Data yang telah dikumpulkan diedit, dikoding, ditabulasi, dan enterung. Analisa data dalam penelitian ini meliputi analisa deskriptif dan uji hipotesis menggunakan uji *Wilcoxon Signed Ranks Test* dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$. Data diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 22,00 *for windows*.

3.10 Etika penelitian

Penelitian ini akan 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 akan diberikan imbalan sesuai dengan kemampuan peneliti.

3.11 Jadwal penelitian

Kegiatan	1				2				3				4				5				6			
	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