

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

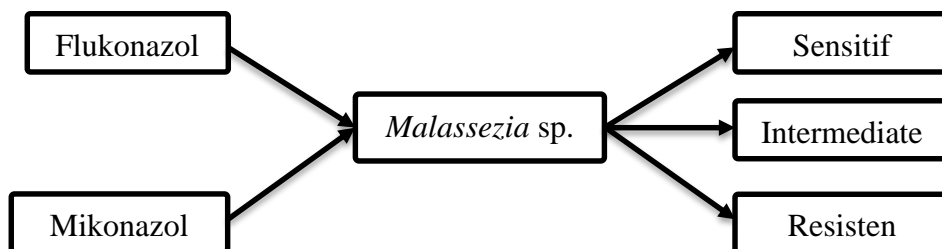
Penelitian ini adalah penelitian dalam bidang Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin serta bagian Mikrobiologi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Nasional Diponegoro, Desa Samban Ungaran, dan Laboratorium Mikrobiologi FK Undip pada bulan April - Agustus 2017.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

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



Gambar 12. Desain Penelitian

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.8.1 Populasi Target

Populasi target penelitian ini adalah pasien penderita PV.

3.8.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien penderita PV yang datang berobat di RSND pada bulan April sampai Agustus 2017 dan warga desa Samban Ungaran.

3.8.3 Sampel

Sampel penelitian adalah pasien penderita PV yang datang berobat di RSND dan warga desa Samban Ungaran, yang menunjukkan hasil positif pada pemeriksaan klinis, lampu wood, mikroskopik KOH dengan ditemukan gambaran *sphagetti and meatball* dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi untuk penelitian ini adalah:

- Pria atau wanita usia 15-64 tahun dengan diagnosis PV dan kultur *malassezia* sp. positif.
- Bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*.
- Tidak sedang mengonsumsi obat antijamur

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

Pada penelitian ini tidak terdapat kriteria eksklusi.

3.8.4 Cara sampling

Pemilihan subjek penelitian dilakukan dengan cara *consecutive sampling* yakni berdasarkan kedatangan subjek penelitian. Pasien yang sesuai dengan kriteria penelitian akan dipakai sebagai subjek penelitian. Pengambilan sampel dihentikan setelah jumlah sampel terpenuhi.

3.5 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus uji hipotesis untuk 2 proporsi⁴⁰:

$$n1 = n2 = \frac{(Z\alpha\sqrt{2PQ} + Z\beta\sqrt{P1Q1 + P2Q2})^2}{(P1 - P2)^2}$$

$n1 = n2 =$ besar sampel

$Z\alpha =$ deviat baku normal untuk $\alpha = 1,96$

$Z\beta =$ deviat baku normal untuk $\beta = 0,842$

$P1 =$ proporsi sensitivitas antijamur flukonazol = 1,00

$P2 =$ proporsi sensitivitas antijamur mikonazol = 0,63

$Q1 =$ perbedaan hasil klinis antijamur flukonazol = 0,00

$Q2 =$ perbedaan hasil klinis antijamur mikonazol = 0,37

$P =$ proporsi = $\frac{1}{2} (P1 + P2) = 0,815$

$Q =$ perbedaan hasil klinis = $1 - P = 0,185$

Metode perhitungan:

$$n1 = n2 = \frac{(1,96\sqrt{2 \cdot 0,815 \cdot 0,185} + 0,842\sqrt{1,00 \cdot 0,00 + 0,63 \cdot 0,37})^2}{(1,00 - 0,63)^2}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{(1,96\sqrt{0,30}+0,842\sqrt{0+0,23})^2}{0,37^2} \\
&= \frac{(1,96\sqrt{0,30}+0,842\sqrt{0,23})^2}{0,14} \\
&= \frac{(1,96 \cdot 0,55+0,842 \cdot 0,48)^2}{0,14} \\
&= \frac{(1,08+0,40)^2}{0,14} \\
&= \frac{1,48^2}{0,14} \\
&= \frac{2,19}{0,14} \\
&= 15,64 \\
&= 16
\end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan sampel, maka besar sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 16 sampel dengan diagnosis PV dan kultur *malassezia* sp. positif untuk tiap jenis antijamur.

Keterangan:

P1 dan P2 didapatkan berdasarkan referensi:

- Nur Hidayati⁹
- Whitney, dkk¹⁰

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah sensitivitas jamur *Malassezia* sp.

3.6.2 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah antijamur flukonazol dan mikonazol.

3.7 Definisi Operasional

Tabel 7. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Skala																
1.	<i>Malassezia</i> sp.	Jamur penyebab PV yang diidentifikasi dari : - Uji mikroskopik KOH 10% (+) → gambaran <i>spaghetti and meatball</i> - Kultur <i>malassezia</i> sp. (+)	Nominal																
2.	Sensitivitas <i>Malassezia</i> sp.	Uji sensitivitas dilakukan dengan metode <i>disk diffusion</i> sesuai dengan standar CLSI. <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Cakram antijamur</th> <th colspan="3">Zona hambat (mm)</th> </tr> <tr> <td></td> <th>S</th> <th>I</th> <th>R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Flukonazol</td> <td>≥ 19</td> <td>18-15</td> <td>≤ 14</td> </tr> <tr> <td>Mikonazol</td> <td>≥ 20</td> <td>19-12</td> <td>≤ 11</td> </tr> </tbody> </table>	Cakram antijamur	Zona hambat (mm)				S	I	R	Flukonazol	≥ 19	18-15	≤ 14	Mikonazol	≥ 20	19-12	≤ 11	Ordinal - Sensitif - Intermediate - Resisten
Cakram antijamur	Zona hambat (mm)																		
	S	I	R																
Flukonazol	≥ 19	18-15	≤ 14																
Mikonazol	≥ 20	19-12	≤ 11																
3.	Jenis antijamur	Digunakan 2 macam antijamur dalam bentuk disk dengan merk BioRad berdiameter 6,5 mm, yaitu: - Flukonazol 25 µg - Mikonazol 50 µg	Nominal																

3.8 Cara Pengumpulan Data

3.8.1 Bahan

A. Untuk diagnosis PV secara mikroskopis

1. KOH 10%

B. Untuk kultur *Malassezia* sp.

Media kultur *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA)

C. Untuk uji kepekaan

1. Media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA)
2. Standar *McFarland 0.5*

3. Disk antijamur flukonazol

4. Disk antijamur mikonazol

3.8.2 Alat

1. Lampu wood

2. Cawan petri

3. Skalpel

4. Objek glass

5. Deck glass

6. Osse steril / lidi kapas steril

7. Lampu spirtus

8. Kapas

9. Alkohol 70%

10. Tabung reaksi

11. Mikroskop

3.8.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil penelitian yaitu sensitif, intermediet, atau resisten jamur *Malassezia* sp. terhadap antijamur flukonazol dan mikonazol pada media SDA.

3.8.4 Cara Kerja

3.8.4.1 Pengambilan sampel

1. Penderita yang datang dengan keluhan utama bercak putih, coklat, atau merah yang terasa gatal terutama saat berkeringat diberi nomor sesuai kedatangan.

2. Lakukan anamnesis pada penderita dan jelaskan tindakan yang akan dilakukan
3. Berikan lembar *informed consent* untuk diisi oleh penderita yang bersedia menjadi sampel penelitian
4. Lakukan pemeriksaan klinis pada penderita
5. Lanjut dengan pemeriksaan menggunakan lampu wood pada ruangan gelap
6. Lakukan pemeriksaan mikroskopik menggunakan KOH 10%. Cara pengambilan sampel dengan desinfeksi daerah yang akan dikerok menggunakan alkohol 70%. Kerok menggunakan skalpel steril, hasil kerokan diletakkan pada objek glass dan diberi KOH 10%. Lihat menggunakan mikroskop. Apabila positif akan ditemukan gambaran *spaghetti and meatball*.

3.8.4.2 Pemeriksaan kultur sel jamur

1. Ambil spesimen hasil kerokan kulit pada lesi yang telah ditemukan gambaran *spaghetti and meatball*
2. Tanam di media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) dan inkubasi pada suhu ruang.
3. Biarkan sekitar \pm 7 hari hingga terlihat pertumbuhan koloni.

3.8.4.3 Uji kepekaan dengan metode *disk diffusion*

Dilakukan uji kepekaan terhadap 2 antijamur, yaitu: flukonazol dan mikonazol secara *in vitro* terhadap jamur *Malassezia sp* menggunakan teknik *disk diffusion* berdasarkan CLSI. Nilai standar baku interpretasi diameter zona hambat yang digunakan berdasarkan CLSI. Kemudian ditentukan status sensitivitas obat antijamur dengan zona penghambatan.

Uji sensitivitas terhadap obat antijamur pada *Malassezia sp.* ini menggunakan metode *disk diffusion*.

1. Persiapan obat

Obat antijamur yang digunakan berupa disk / cakram yang diproduksi berdasarkan standar WHO. Cakram berisi kristal homogen.

Cakram yang digunakan berjumlah 2 macam:

- Flukonazol 25 µg
- Mikonazol 50 µg

2. Persiapan media

Media yang digunakan *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)* .

3. Persiapan inokulum

Inokulum yang digunakan didapat dari hasil kultur SDA. Suspensi inokulum dilarutkan dalam 5 ml saline normal, lalu dikocok dengan untuk mendapatkan suspensi yang halus. Kemudian inokulum disesuaikan kepadatannya menjadi

campuran yang homogen dengan menggunakan 0,5 *Standar McFarland*.

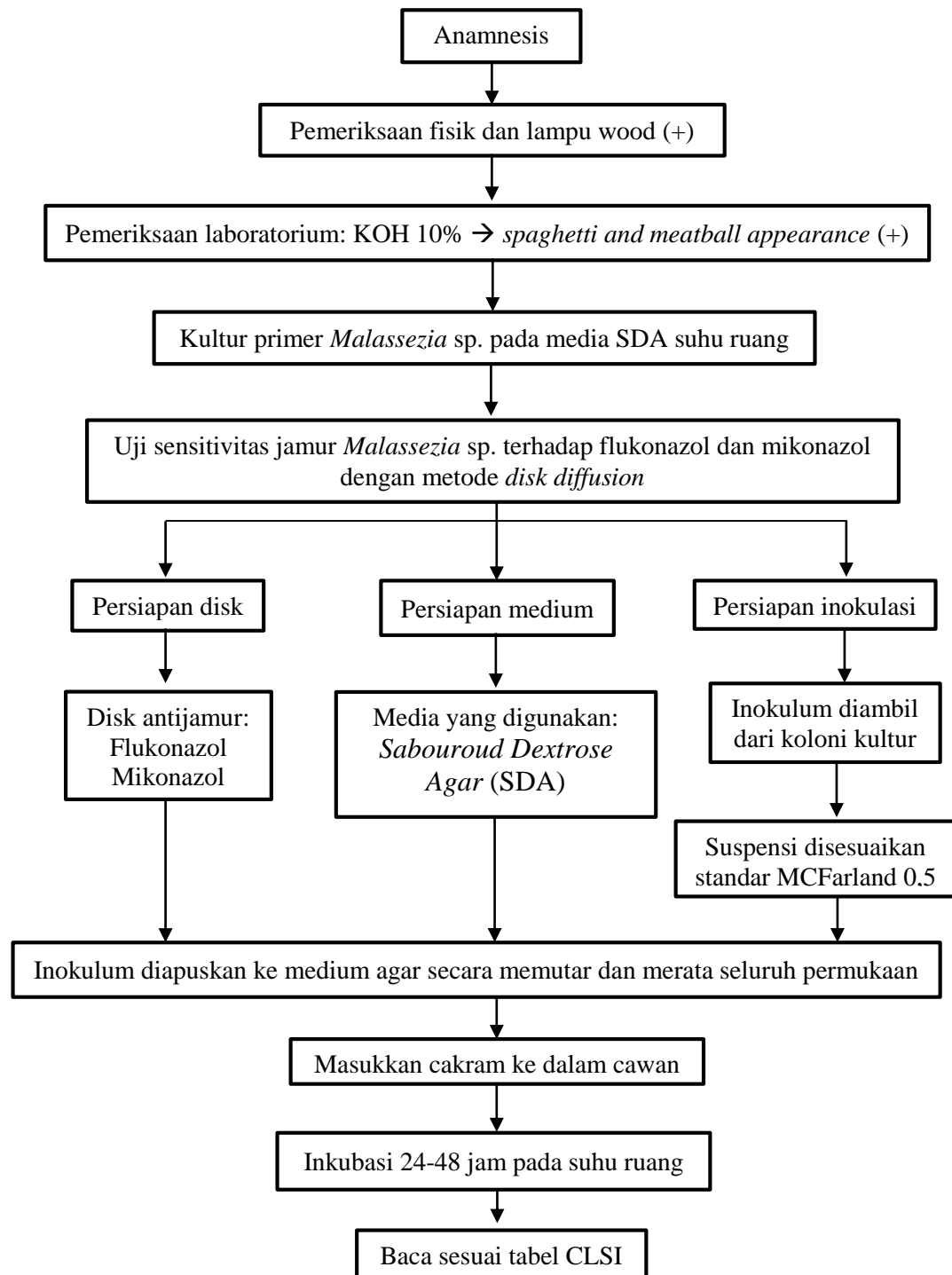
4. Cara pengerjaan

- Siapkan cawan petri yang telah diisi dengan media *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)*.
- Menggunakan osse / lidi kapas steril, ambil inokulum yang telah disesuaikan kepadatannya
- Inokulasi koloni ke media *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)* agar dengan cara apusan merata dan cawan diputar supaya koloni tampak merata pada permukaan.
- Masukkan cakram pada permukaan agar, lalu ditekan ringan untuk memastikan cakram kontak dengan agar. Jangan memindahkan cakram setelah menyentuh agar.
- Inkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang.

5. Pembacaan zona hambat

Ukur diameter zona hambat menggunakan penggaris. Catat hasilnya dan sesuaikan dengan tabel interpretasi menurut CLSI.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 13. Alur Penelitian

3.10 Analisis Data

Data yang terkumpul diperiksa kelengkapan dan kebenarannya, selanjutnya dianalisis menggunakan program SPSS. Pengujian statistik yang dilakukan adalah uji beda dengan analisa data yang digunakan meliputi analisa deskriptif dan uji hipotesis menggunakan uji chi square (uji x^2) dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$.

3.11 Etika Penelitian

Ethical Clearance telah didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atau RS dr. Kariadi Semarang. Persetujuan penelitian diberikan dalam bentuk *informed consent* tertulis. Subjek penderita atau calon subjek penelitian telah diberi penjelasan tentang tujuan, manfaat, dan prosedur penelitian. Penderita berhak menolak untuk diikutsertakan pada penelitian. Penderita yang menolak tetap mendapat pengelolaan dan penanganan sesuai dengan protap PV. Identitas subjek penelitian telah dirahasiakan dan tidak dipublikasikan tanpa seijin subjek penelitian. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian telah ditanggung oleh peneliti.