

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup keilmuan dalam penelitian ini adalah bidang ilmu Mikrobiologi Kedokteran

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Agustus 2017

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

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

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi Target

Swab nasofaring balita sehat yang tinggal di Kota Semarang

3.4.2 Populasi Terjangkau

Swab nasofaring balita sehat di Kelurahan Trimulyo Kecamatan Genuk, Kota Semarang

3.4.3 Sampel

Sampel penelitian ini adalah Swab nasofaring balita sehat di Kelurahan Trimulyo Kecamatan Genuk, Kota Semarang yang telah diambil dari penelitian sebelumnya⁴² dan disimpan dalam media STGG (*skim milk, tryptone, glucose, and glycerin*) pada temperatur -80°C selama 1 tahun.

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

Swab nasofaring balita sehat yang disimpan dalam media STGG pada temperatur -80°C selama 1 tahun.

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- Terdapat kontaminasi atau kerusakan pada tube penyimpanan swab.
- Ketebalan media tidak berada dalam rentang yang diterima (4-5 mm)

3.4.4 Cara Sampling

Swab nasofaring balita sehat yang disimpan dalam media STGG pada temperatur -80°C, didapatkan dengan cara *Simple random sampling*.

3.4.5 Besar Sampel

Dihitung menggunakan rumus Federer :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan: t = perlakuan

n = ulangan/ replikasi

Karena akan dilakukan 2 perlakuan (t), yaitu :

- 1) Penanaman *S.pneumoniae* pada ADDG
- 2) Penanaman *S.pneumoniae* pada ADMG dengan preinkubasi dalam STHB

Maka perhitungan sampel minimal sebagai berikut :

$$(2-1)(n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Jadi, sampel minimal yang dibutuhkan untuk tiap perlakuan adalah 16, dimana masing-masing dilakukan secara duplo.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Jenis media yaitu:

1. Media agar dari darah domba dan gentamisin 5 µg/mL (ADDG)
2. Media agar dari darah manusia dan gentamisin 5 µg/mL (ADMG) dengan preinkubasi dalam STHB.

3.5.2 Variabel Terikat

Pertumbuhan *S.pneumoniae* setelah pengamatan meliputi:

1. Kuantitas koloni
2. Diameter koloni
3. Diameter zona hemolisis
4. Karakteristik koloni

3.6 Definisi Operasional

Tabel 1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Jenis Media Jenis media dan cara pembuatan media tersebut 1= ADDG adalah agar darah domba yang telah didefibrinasi dengan basis <i>columbia agar</i> ditambah gentamisin 5 g/mL 2= ADMG dan preinkubasi dalam STHB (media THB ditambah ekstrak <i>yeast</i> 0,5 % dan serum kelinci) dilanjutkan penanaman pada ADMG (agar darah manusia yang telah dicuci) dengan basis <i>columbia agar</i> ditambah gentamisin 5 g/mL	-	Nominal
2.	Kuantitas Koloni Ada tidaknya koloni (yang sensitif terhadap uji optochin dan tampak gram positif dalam pengecatan gram) pada setiap zona streak pada media agar 1= Terdapat koloni pada zona 1 2= Terdapat koloni pada zona 1 dan 2 3= terdapat koloni pada zona 1, 2, dan 3 4= terdapat koloni pada zona 1, 2, 3, dan 4		Ordinal
3.	Diameter Koloni Rata-rata diameter dari 3 koloni tunggal (yang sensitif terhadap uji optochin dan tampak gram positif dalam pengecatan gram) yang paling besar, diukur dengan menggunakan Ruler dari aplikasi Corel Draw X7 dan dinyatakan dalam millimeter	mm	Rasio
4.	Diameter Zona Hemolisis Rata-rata diameter dari 3 koloni tunggal (yang sensitif terhadap uji optochin dan tampak gram positif dalam pengecatan gram) yang paling besar, diukur dengan menggunakan Ruler dari aplikasi Corel Draw X7 dan dinyatakan dalam millimeter	Mm	Rasio

Tabel 2 Definisi Operasional (lanjutan)

<p>5. Karakteristik Koloni</p> <p>Mudah tidaknya koloni <i>S.pneumoniae</i> dibedakan dengan koloni bakteri lain yang tumbuh di media agar.</p> <p>Koloni <i>S.pneumoniae</i> dalam agar darah adalah kecil, abu-abu, pada 16-24 jam pertama koloni berbentuk kubah (<i>dome-shaped</i>), selanjutnya koloni akan semakin rata dan mencekung (umbilikasi) pada bagian tengah. Pembacaan dilakukan oleh dua orang untuk menyamakan persepsi.</p> <p>1 = susah dibedakan</p> <p>2= mudah dibedakan yaitu dengan rata rata diameter 1-3 mm, memiliki permukaan yang mencekung dan basah, serta menghasilkan alfa hemolisis</p>	- Nominal
---	-----------

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- 1) Media Agar Darah Domba dengan Gentamisin 5 µg/mL
- 2) Media Agar Darah Manusia dengan Gentamisin 5 µg/mL
- 3) STHB yang diperkaya oleh serum kelinci dan ekstrak *yeast* 0,5%
- 4) Swab nasofaring balita sehat yang telah disimpan pada media STGG

3.7.2 Alat

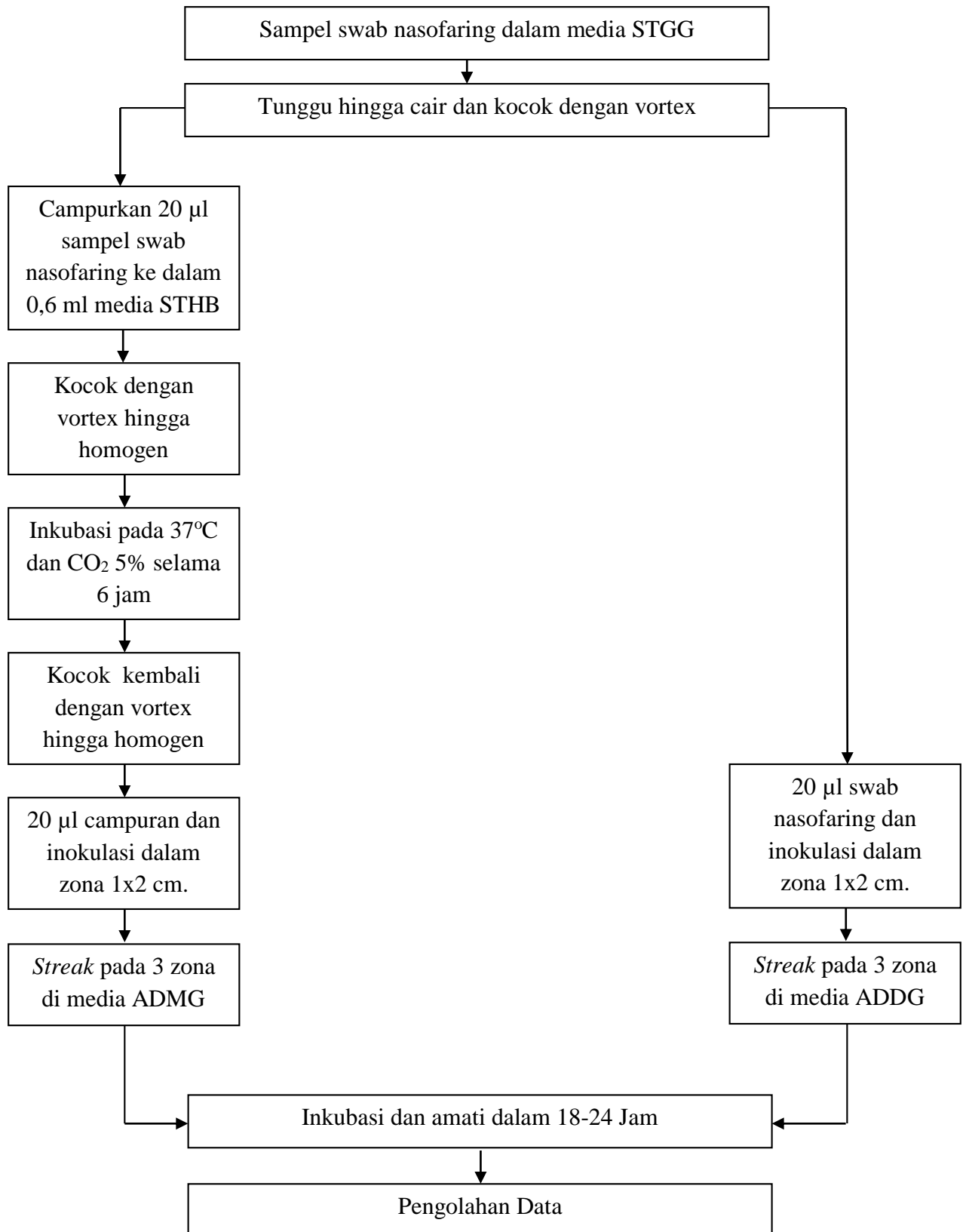
- 1) Osse steril
- 2) Lampu spiritus dan korek api
- 3) Tabung reaksi
- 4) Vortex
- 5) Pipet
- 6) Inkubator

3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yaitu pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae* pada media agar yang diuji.

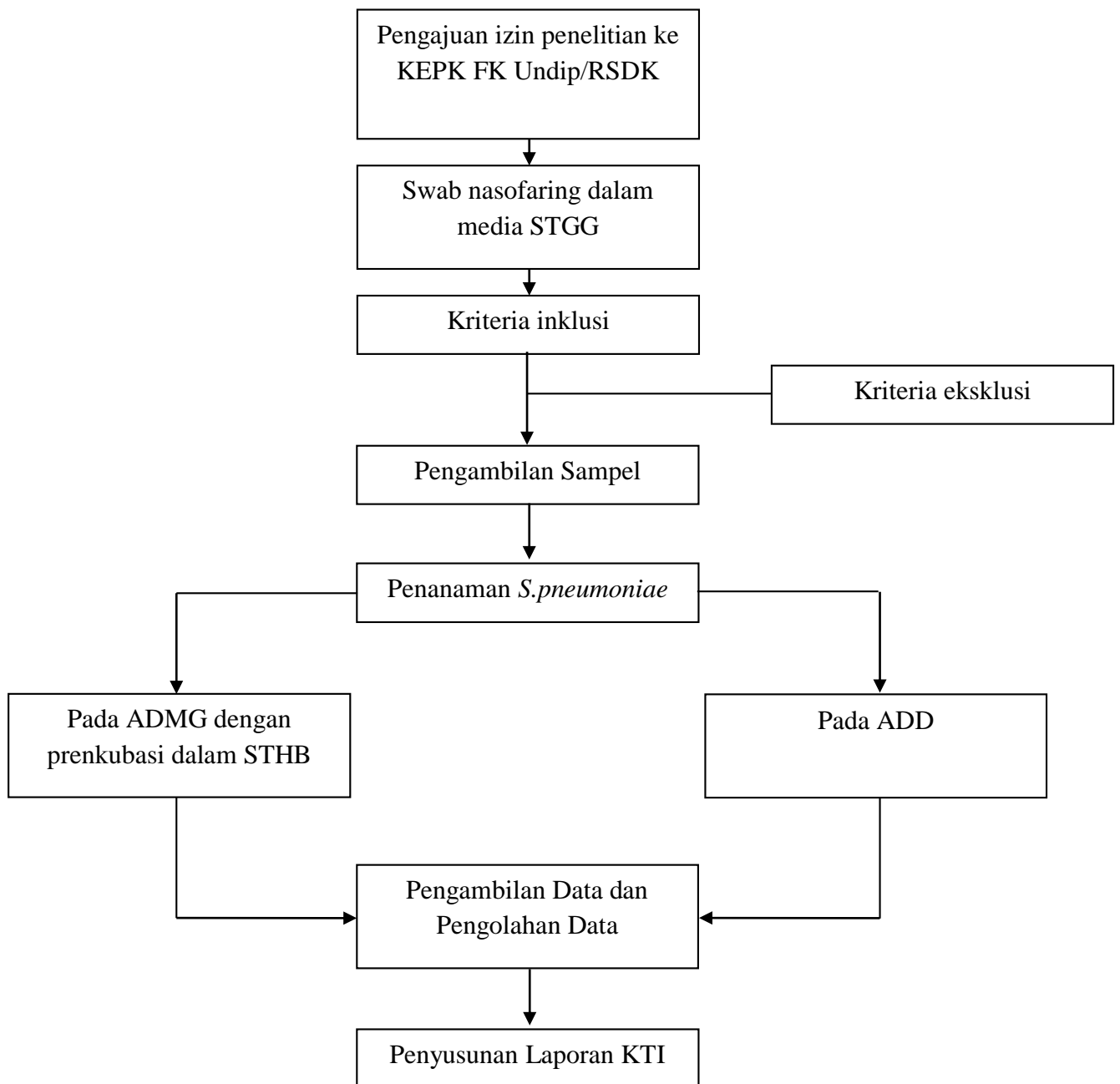
3.7.4 Cara Kerja

- 1) Tunggu hingga sampel swab nasofaring yang telah disimpan pada media STGG mencair dalam suhu ruangan (25°C) dan dikocok menggunakan vortex selama 10-20 detik.
- 2) Untuk perlakuan dengan preinkubasi dalam STHB:
 - a. Ambil 200 µl sampel swab nasofaring tersebut dan campurkan ke dalam 6 ml media STHB (5 ml THB yang mengandung ekstrak *yeast* 0,5% dan ditambah 1 ml serum kelinci).
 - b. Kocok campuran tersebut secara homogen menggunakan vortex dan inkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 10%.
 - c. Kocok kembali campuran yang telah di inkubasi dengan menggunakan vortex
- 3) Ambil 10 µl sampel dengan menggunakan osse steril dan dioleskan pada zona agar darah dalam zona ukuran 1x2 cm
 - a. Lakukan *streak* pada 3 zona
 - b. Sampel yang telah ditanam pada media agar darah, diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 10% selama 16-24 jam.
 - c. Amati pertumbuhan koloni



Gambar 1. Cara Kerja

3.8 Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

