

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

Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada bulan Juni – Agustus 2017

3.3 Jenis dan Rencana Penelitian

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

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

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 yang tinggal di Kelurahan Trimulyo Kecamatan Genuk, Kota Semarang yang diambil dari penelitian sebelumnya³⁴ dan disimpan dalam media *Skim milk, Tryptone, Glucose, and Glycerin* (STGG) pada temperatur -80°C.

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

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

3.4.4 Cara Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari swab nasofaring balita sehat yang disimpan dalam media STGG pada temperatur -80°C yang dicairkan, dengan *purposive sampling*.

3.4.5 Besar Sampel

Besar sampel dihitung menggunakan rumus Federer.

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

Keterangan:

t = perlakuan

n = ulangan/ replikasi

Karena dilakukan dua perlakuan (t), yaitu:

- 1) Penanaman *Streptococcus pneumoniae* pada media agar darah domba ditambah $5 \mu\text{g/ml}$ gentamisin dengan *Columbia agar*
- 2) Penanaman *Streptococcus pneumoniae* pada media media agar darah domba ditambah $5 \mu\text{g/ml}$ gentamisin dengan TSA

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, di mana masing-masing dilakukan secara duplo.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Jenis *agar base* dalam media agar darah domba sebagai media kultur, yaitu:

- 1) Media agar darah domba ditambah gentamisin menggunakan TSA
- 2) Media agar darah domba ditambah gentamisin menggunakan *Columbia agar*

3.5.2 Variabel Terikat

Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* setelah pengamatan meliputi:

- 1) Kuantitas koloni
- 2) Diameter koloni
- 3) Diameter zona hemolisis
- 4) Karakteristik koloni

3.6 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Media Agar Darah Domba menggunakan <i>Columbia agar</i> dan TSA Media kultur berupa media agar padat dengan suplementasi 6% darah domba yang telah didefibrinasi yang ditambah antibiotik gentamisin 5 µg/mL. 1 = ADDG-COL adalah agar darah domba ditambah gentamisin dengan <i>agar base Columbia agar</i> 2 = ADDG-TSA adalah agar darah domba ditambah gentamisin dengan <i>agar base TSA</i>	-	Nominal
2.	Kuantitas Koloni Ada tidaknya persebaran koloni <i>S.pneumoniae</i> yang telah dikonfirmasi dengan tes kepekaan optochin dan pengecatan gram pada setiap zona <i>streak</i> pada media agar setelah dilakukan <i>isolated streak</i> dengan membagi lempeng agar menjadi 4 zona 0 = tidak terdapat koloni di zona 1,2, 3 dan 4 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 paling besar, lempeng agar difoto pada jarak tertentu kemudian diukur secara digital menggunakan <i>grid</i> dan <i>ruler</i> pada <i>software CorelDraw X7</i> dan dinyatakan dalam milimeter	mm	Rasio
4.	Diameter Zona Hemolisis Rata-rata diameter dari 3 zona hemolisis koloni tunggal yang paling besar, lempeng agar difoto dari arah cahaya dan pada jarak tertentu kemudian diukur secara digital dengan <i>grid</i> dan <i>ruler</i> pada <i>software CorelDraw X7</i> dan dinyatakan dalam milimeter	mm	Rasio
5.	Karakteristik Koloni Mudah tidaknya koloni <i>S. pneumoniae</i> dibedakan dengan koloni bakteri lain yang tumbuh di media agar. Koloni <i>S. pneumoniae</i> dalam agar darah adalah kecil, abu-abu, pada 18-24 jam pertama koloni berbentuk kubah (<i>dome-shaped</i>), selanjutnya koloni akan semakin rata dan mencekung (umbilikasi) pada bagian tengah. ^{17,18} Pembacaan dilakukan oleh dua orang untuk menyamakan persepsi. 1 = susah dibedakan 2 = mudah dibedakan yaitu dengan rata rata diameter 1-3 mm, memiliki permukaan yang mencekung ditengah dan mengkilap, serta menghasilkan hemolisis alfa	-	Ordinal

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Alat

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

3.7.2 Bahan

- 1) Media Agar Darah Domba ditambah Gentamisin 5 µg/ml dengan *agar base TSA*
- 2) Media Agar Darah Domba ditambah Gentamisin 5 µg/ml dengan *agar base Columbia Agar*
- 3) Swab nasofaring balita sehat yang telah disimpan pada media STGG

3.7.3 Jenis Data

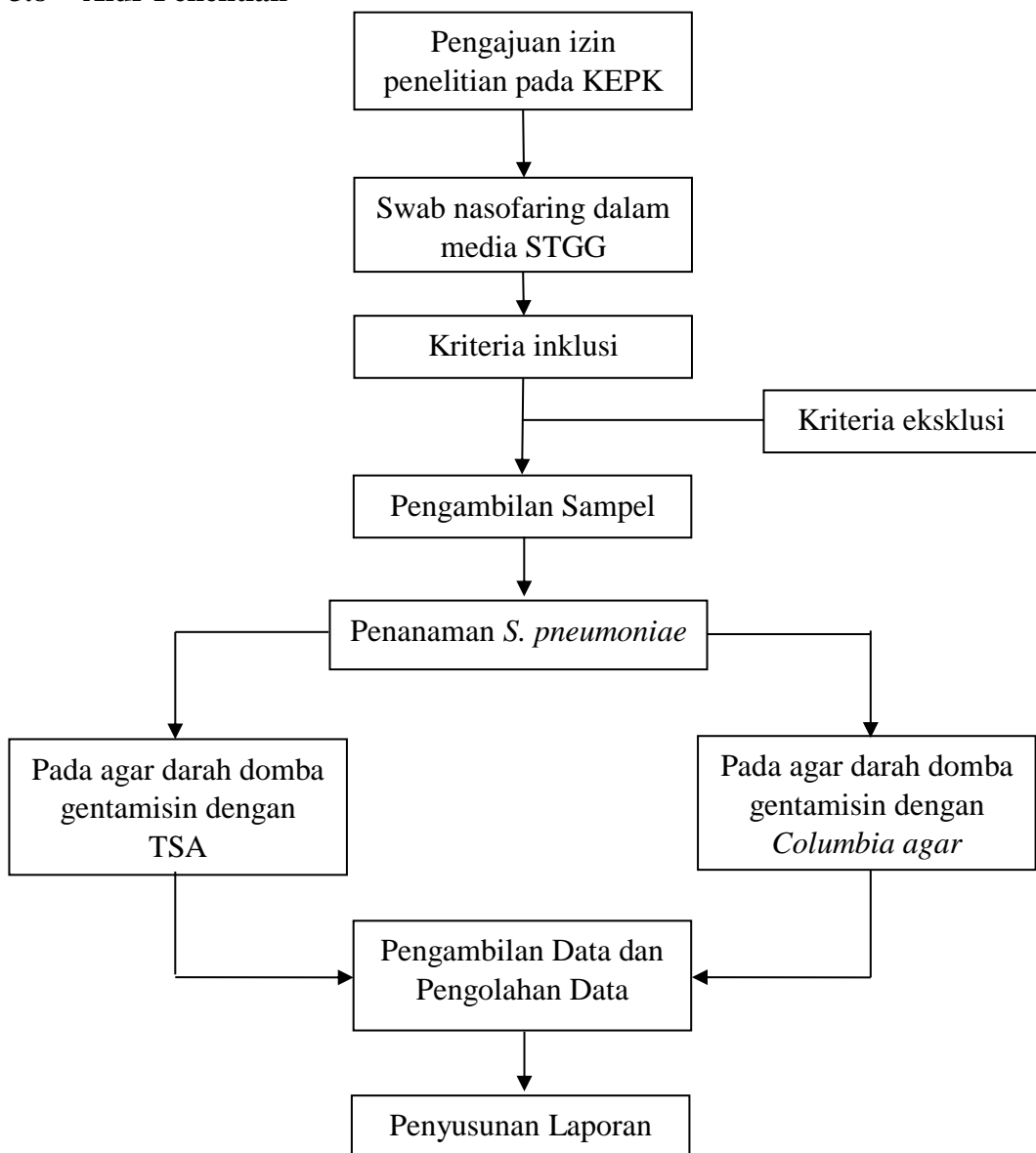
Data yang dikumpulkan merupakan data primer yaitu pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae* pada media agar yang diuji.

3.7.4 Cara Kerja

- 1) Sampel swab nasofaring yang telah disimpan pada media STGG dalam suhu ruangan (25°C) dicairkan dan dikocok menggunakan vortex selama 10-20 detik.

- 2) 10 μ l sampel diambil dengan menggunakan osse steril dan dioleskan pada zona agar darah dalam zona ukuran 1x2 cm.
- 3) Dilakukan *streak* isolasi.
- 4) Sampel yang telah ditanam pada media agar darah, diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 10% selama 18-48 jam.
- 5) Pertumbuhan koloni diamati.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

3.9 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis dilakukan *cleaning*, *coding*, tabulasi data dan kemudian data dimasukkan kedalam komputer. Hasil pengamatan pada semua variabel tergantung dianalisis dengan menggunakan beberapa uji. Untuk skala numerik (diameter koloni dan zona hemolisis) dilakukan uji *Student –T* jika data berdistribusi normal dan Uji Mann Whitney jika data tidak berdistribusi normal. Skala nominal dan ordinal (kuantitas koloni dan karakteristik koloni) dianalisis dengan uji *Chi Square*.

Nilai derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan. Analisis data menggunakan program *Statistical Program for Social Science* (SPSS) ver 21.0 for Windows

3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dan kelayakan etik berupa *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dengan No. 462/EC/FK-RSDK/VII/2017 pada bulan Juli 2017.