

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 Desa Samban Ungaran Kabupaten Semarang dan laboratorium mikrobiologi FK Undip/Rumah Sakit Nasional Diponegoro 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 10. Rancangan penelitian

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Target

Populasi target penelitian ini adalah pasien dengan pitiriasis versikolor.

3.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien dengan pitiriasis versikolor yang datang di Desa Samban Ungaran Kabupaten Semarang dan laboratorium mikrobiologi FK Undip/Rumah Sakit Nasional Diponegoro pada bulan April - Agustus 2017.

3.4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah pasien dengan pitiriasis versikolor yang datang di Desa Samban Ungaran Kabupaten Semarang dan laboratorium mikrobiologi FK Undip/Rumah Sakit Nasional Diponegoro pada bulan April - Agustus 2017, dengan kriteria inklusi sebagai berikut :

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi untuk penelitian ini adalah :

- Pria atau wanita (16-64 tahun) dengan diagnosis pitiriasis versikolor dan kultur *Malassezia* sp. positif.
- Bersedia mengikuti penelitian ini dengan menandatangani *inform consent*.
- Tidak sedang mengonsumsi obat antijamur.

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

Pada penelitian ini tidak memiliki kriteria eksklusi.

3.4.4 Cara Sampling

Pemilihan subjek penelitian dilakukan dengan cara *consecutive sampling* yakni berdasarkan kedatangan subjek penelitian. Pasien yang sesuai dengan kriteria penelitian dijadikan 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 proporsi⁷⁵:

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

$n1 = n2 =$ besar sampel

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

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

$P1 =$ proporsi sensitivitas antijamur ketokonazol = 1⁷⁰

$P2 =$ proporsi sensitivitas antijamur mikonazol = 0,63⁷⁰

$Q1 =$ perbedaan hasil klinis antijamur ketokonazol = 0

$Q2 =$ 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 :

$$\begin{aligned} n1 = n2 &= \frac{(1,96\sqrt{0,302} + 0,842\sqrt{0,233})^2}{(0,37)^2} \\ &= \frac{(1,96\sqrt{0,302} + 0,842\sqrt{0,233})^2}{0,137} \\ &= \frac{(1,08 + 0,4)^2}{0,137} \\ &= \frac{1,48^2}{0,137} \\ &= \frac{2,2}{0,137} \\ &= 16,05 = 16 \end{aligned}$$

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:

- Whitney, dkk⁷⁰

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Terikat

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

3.6.2 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah antijamur ketokonazol dan mikonazol.

3.7 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Skala
1.	<i>Malassezia</i> sp.	Jamur penyebab pitiriasis versikolor yang diidentifikasi dari : <ul style="list-style-type: none"> - Pemeriksaan mikroskopik dengan KOH 10% (+) → gambaran <i>spaghetti and meatball</i>. - Kultur <i>Malassezia</i> sp. (+). 	Nominal
2.	Jenis antijamur	Jenis obat yang digunakan berupa cakram berjumlah 2 macam, yaitu : <ul style="list-style-type: none"> - ketokonazol 50 µg - mikonazol 50 µg 	Nominal

3. Sensitivitas	Uji sensitivitas dilakukan dengan Ordinal																
<i>Malassezia</i>	metode difusi cakram sesuai dengan - Sensitif																
sp.	standar CLSI. - Intermediet																
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Cakram</th> <th colspan="3">Zona hambat (mm)</th> </tr> <tr> <td>antijamur</td> <th>S</th> <th>I</th> <th>R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ketokonazol</td> <td>≥ 28</td> <td>27-21</td> <td>≤ 20</td> </tr> <tr> <td>Mikonazol</td> <td>≥ 20</td> <td>19-12</td> <td>≤ 11</td> </tr> </tbody> </table>	Cakram	Zona hambat (mm)			antijamur	S	I	R	Ketokonazol	≥ 28	27-21	≤ 20	Mikonazol	≥ 20	19-12	≤ 11
Cakram	Zona hambat (mm)																
antijamur	S	I	R														
Ketokonazol	≥ 28	27-21	≤ 20														
Mikonazol	≥ 20	19-12	≤ 11														
	- Resisten																

3.8 Alat, Bahan dan Cara Pengumpulan Data

3.8.1 Alat

1. Lampu wood
2. Cawan petri
3. Skalpel
4. *Object glass*
5. *Deck glass*
6. Osse steril / lidi kapas steril
7. Lampu spirtus
8. Kapas
9. Alkohol 70%
10. Tabung reaksi
11. Mikroskop

3.8.2 Bahan

A. Untuk diagnosis pitiriasis versikolor secara mikroskopis

KOH 10%

B. Untuk kultur *Malassezia* sp.

Media kultur SDA

C. Untuk uji kepekaan

1. Media SDA yang ditambah dengan *olive oil* dan amoksisilin 1000 mg
2. Standar *McFarland 0.5*
3. Disk antijamur ketokonazol
4. Disk antijamur mikonazol

3.8.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil penelitian yaitu sensitif, intermediet, atau resisten jamur *Malassezia* sp. terhadap antijamur ketokonazol 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 *inform 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 pada media SDA pada suhu ruang.
3. Biarkan sekitar ± 7 hari hingga terlihat pertumbuhan koloni.

3.8.4.3 Uji Kepekaan dengan Metode Difusi Cakram

Dilakukan uji kepekaan terhadap 2 antijamur, yaitu : ketokonazol dan mikonazol secara *invitro* terhadap jamur *Malassezia sp* menggunakan teknik difusi cakram. Nilai standar baku Kadar Hambat Minimum (KHM) / *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang digunakan berdasarkan CLSI. Metode difusi cakram yang digunakan berdasarkan CLSI kemudian ditentukan status kepekaan obat antijamur dengan zona penghambatan.

Uji kepekaan terhadap obat antijamur pada *Malassezia sp*. ini menggunakan metode difusi cakram.

1. Persiapan obat

Obat antijamur yang digunakan berupa disk / cakram berjumlah

2 macam :

- Ketokonazol 50 μ g
- Mikonazol 50 μ g

2. Persiapan media

Media yang digunakan adalah SDA yang ditambah dengan *olive oil* dan amoksisilin 1000 mg.

3. Persiapan inokulum

Inokulum yang digunakan didapat dari hasil kultur SDA. Suspensi inokulum dilarutkan dalam 5 ml *saline* normal, lalu dikocok dengan vorteks untuk mendapatkan suspensi yang halus. Kemudian inokulum disesuaikan kepadatannya menjadi campuran yang homogen dengan menggunakan 0,5 *Standard McFarland*.

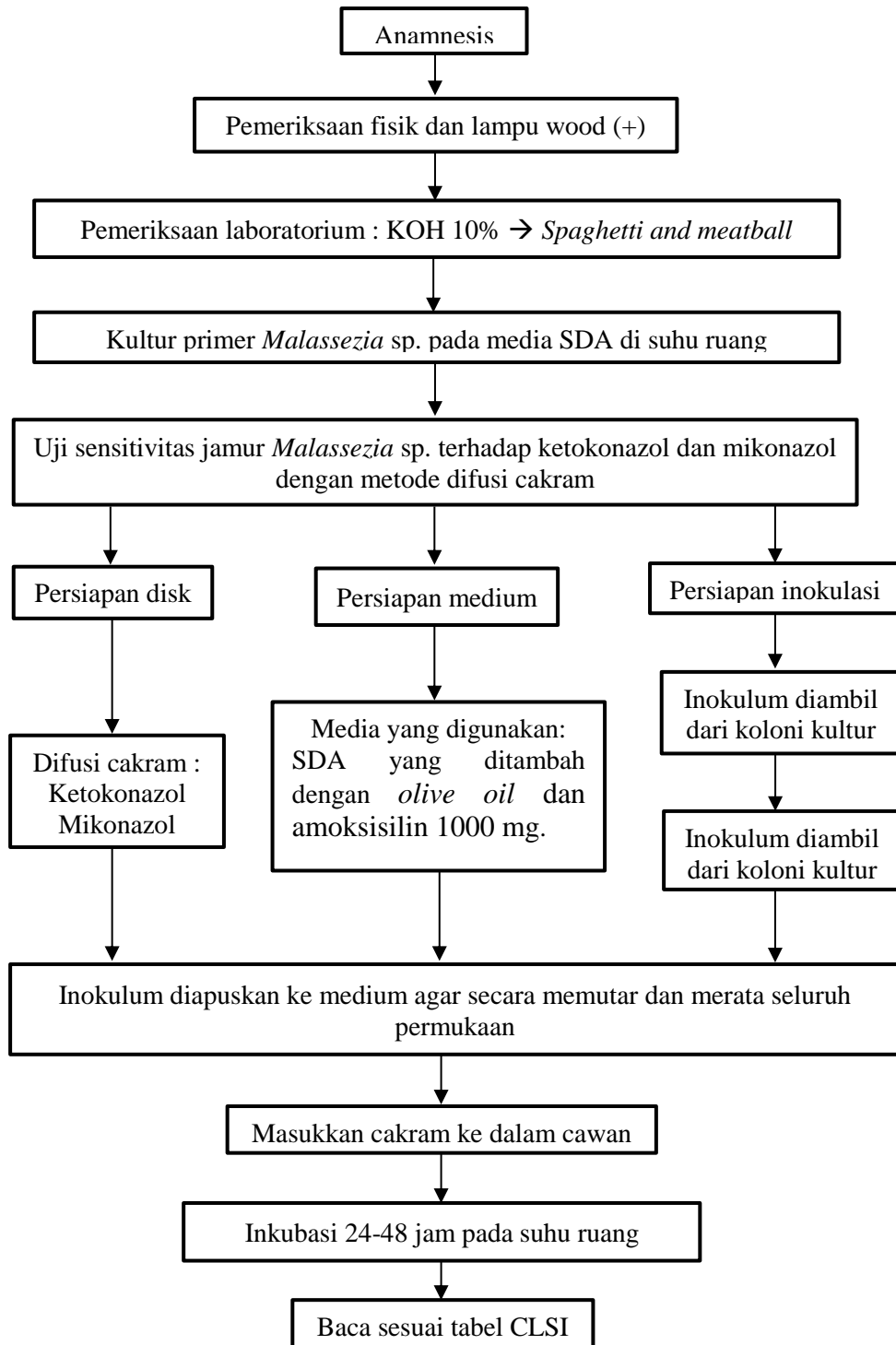
4. Cara pengerjaan

- Siapkan cawan petri yang telah diisi dengan media SDA.
- Menggunakan osse / lidi kapas steril, ambil inokulum yang telah disesuaikan kepadatannya.
- Inokulasi koloni ke media SDA 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 11. Alur penelitian

3.10 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis data pada data yang terkumpul diperiksa kebenaran dan kelengkapan data. Data selanjutnya diberi kode, ditabulasi dan dimasukkan kedalam komputer.

Pengujian statistik yang dilakukan adalah uji beda dengan analisa data yang digunakan meliputi analisa deskriptif dan uji hipotesis menggunakan uji chi square (uji χ^2) dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ atau dengan uji alternatif yaitu *fisher's exact test*.

Nilai p dianggap bermakna apabila $p < 0,05$. Analisis data menggunakan program komputer.

3.11 Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan, protokol penelitian sudah dimintakan *ethical clearence* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan fakultas kedokteran undip/RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Seluruh calon subyek penelitian diberikan penjelasan tentang tujuan, manfaat dan protokol penelitian. Calon subyek yang setuju untuk diikutsertakan dalam penelitian dalam bentuk *informed consent* tertulis. Calon subyek penelitian berhak menolak untuk diikutsertakan dalam penelitian tanpa konsekuensi apapun. Subyek yang menolak tetap mendapat pengelolaan dan penanganan sesuai dengan protap pitiriasis versikolor.

Identitas subyek penelitian dirahasiakan dan tidak akan dipublikasikan tanpa seijin subyek penelitian. Subyek penelitian diberikan imbalan sesuai dengan kemampuan peneliti. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian telah ditanggung oleh peneliti.