

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian adalah bidang keilmuan 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

Waktu pelaksanaan penelitian adalah dimulai dari bulan Juni hingga bulan Agustus 2017.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *true-experimental post test only*.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi Target

H. influenzae pada isolat murni

3.4.2 Populasi Terjangkau

H. influenzae isolat murni yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi FK Undip.

3.4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah isolat murni *H. influenzae* tipe a, b, c, d, e, f, *non-typeable* yang disimpan pada media STGG pada suhu -80°C di Laboratorium Mikrobiologi FK Undip.

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

Isolat murni yang teridentifikasi sebagai bakteri *H. influenzae* dan telah disimpan selama kurang dari satu tahun.

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

Terdapat kerusakan dan kontaminasi *tube* penyimpanan isolat murni.

3.4.4 Cara Sampling

Sampel penelitian diambil dengan menggunakan cara *Consecutive sampling*.

3.4.5 Besar Sampel

Besar sampel penelitian dihitung menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

n = banyaknya ulangan/replikasi

Karena akan dilakukan 3 perlakuan yaitu :

1. Penanaman *Haemophilus influenzae* pada media agar coklat berbasis *blood agar*
2. Penanaman *Haemophilus influenzae* pada media agar coklat berbasis *Tryptic Soy Agar*
3. Penanaman *Haemophilus influenzae* pada media agar coklat berbasis *columbia agar*

Maka, perhitungan sampel minimal adalah

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

$$(3 - 1) (n - 1) \geq 15$$

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

$$n \geq 9$$

Jadi, replikasi minimal yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah 9 untuk masing–masing perlakuan

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah basis media yang digunakan dalam pembuatan agar coklat

3.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian adalah pertumbuhan *H. influenzae* setelah pengamatan, meliputi :

1. Karakteristik koloni
2. Zona pertumbuhan koloni
3. Diameter koloni

3.6 Definisi Operasional

Tabel 5. Definisi Operasional

No	Variabel	Nilai	Skala
1	Jenis media Jenis basis agar media yang digunakan dalam pembuatan agar coklat	1. Agar coklat berbasis <i>blood agar</i> 2. Agar coklat berbasis TSA 3. Agar coklat berbasis <i>columbia agar</i>	Nominal
2	Karakteristik koloni Ada tidaknya gambaran karakteristik makroskopis koloni <i>H. influenzae</i> meliputi warna dan baunya, fisik (+) apabila terdapat koloni berwarna keabu – abuan dan <i>opaque</i> atau berkilau transparan yang dilihat dengan menggunakan lup dengan kondisi pencahayaan cukup dan bau (+) apabila terdapat bau khas (<i>mousy odor</i>) dibandingkan dengan <i>H. influenzae</i> pada media agar coklat standar	0 = tidak ada gambaran karakteristik (fisik -, bau -) 1 = gambaran karakteristik meragukan (salah satu antara fisik dan bau) 2 = ada gambaran karakteristik (fisik +, bau +)	Ordinal
3	Zona pertumbuhan koloni Ada tidaknya koloni yang tumbuh pada setiap zona setelah dilakukan penanaman menggunakan lidi kapas dengan metode <i>streak</i> 4 zona	0 = tidak terdapat koloni di zona 1,2, dan 3 1= Terdapat koloni pada zona 1 2= Terdapat koloni	Ordinal

No	Variabel	Nilai	Skala
4	Diameter 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	Rasio
	Rata – rata diameter dari 3 koloni tunggal yang paling besar, diukur menggunakan Ruler dari program aplikasi Adobe Photoshop dan dinyatakan dalam milimeter		

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

1. Agar coklat dengan basis *blood agar*
2. Agar coklat dengan basis TSA
3. Agar coklat dengan basis agar colombia
4. Isolat murni *H. influenzae* tipe a, b, c, d, e, f dan *non-typeable* yang disimpan dalam media STGG

3.7.2 Alat

1. *Plate*
2. Lidi kapas
3. Inkubator
4. Sungkup lilin

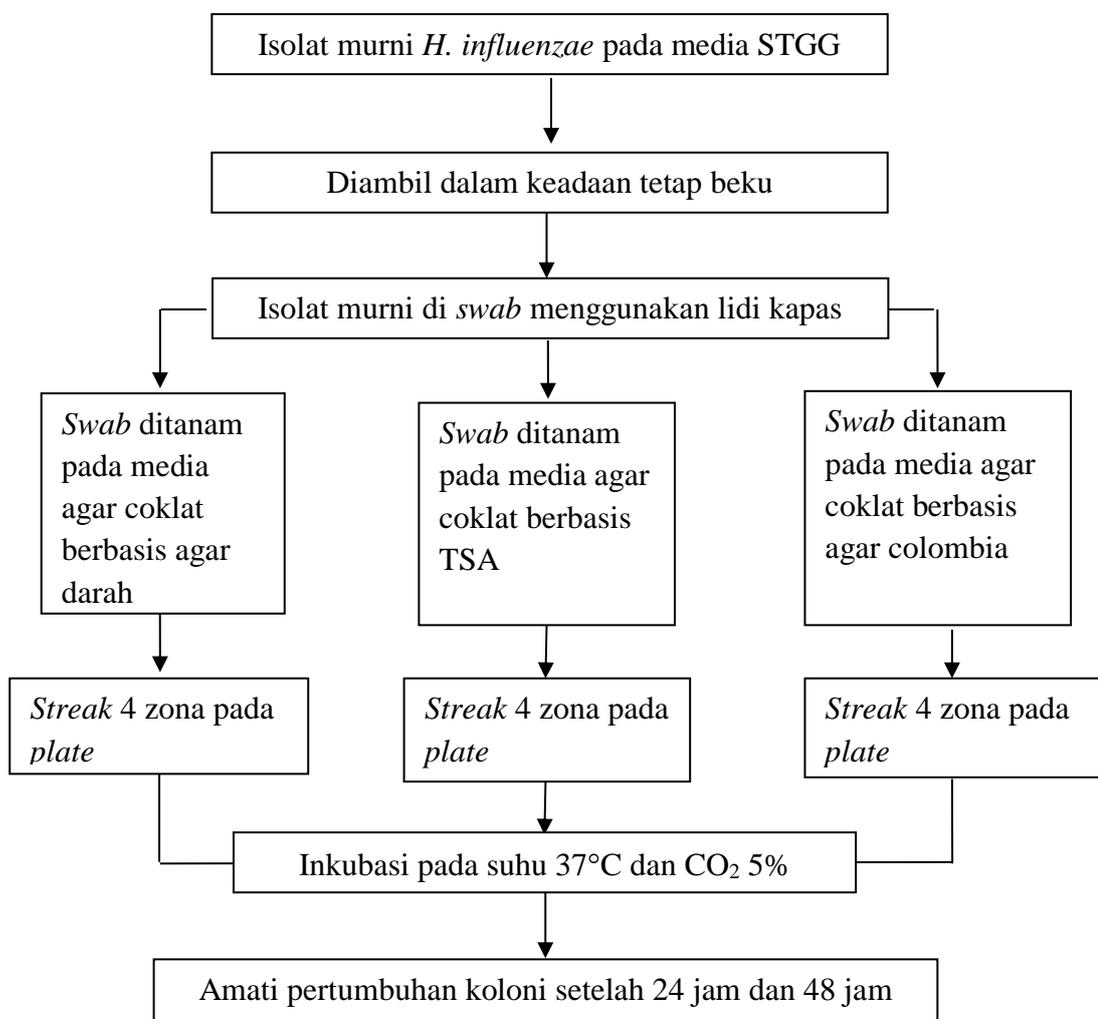
3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yaitu pertumbuhan bakteri *H. influenzae* pada media agar yang diuji

3.7.4 Cara Kerja

1. Isolat *H. influenzae* diambil dari tempat penyimpanannya dalam keadaan beku
2. Dilakukan *swab* pada isolat *H. influenzae* beku menggunakan lidi kapas
3. *Swab* ditanam pada agar coklat yang diuji dengan metode *streak* 4 zona
4. *Plate* diinkubasi pada suhu 37°C dan dengan tekanan CO₂ 5%. Tekanan CO₂ 5% didapatkan dengan metode sungkup lilin
5. Amati pertumbuhan *H. influenzae* pada *plate* setelah diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam

3.8 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur penelitian

3.9 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis data, dilakukan *cleaning*, *coding*, tabulasi data dan kemudian, data dimasukkan ke dalam komputer. Kemudian, data diuji normalitas distribusinya menggunakan tes normalitas *Saphiro–Wilk*. Uji hipotesis untuk diameter koloni (variabel numerik) menggunakan uji *one-way Anova*,

sedangkan uji hipotesis untuk zona pertumbuhan koloni dan karakteristik koloni (variabel kategorik) menggunakan uji *Chi-square*.

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

3.10 Etika Penelitian

Ethical clearance didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS Dr. Kariadi Semarang

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 6. Jadwal Penelitian

Jadwal	Bulan					
	1	2	3	4	5	6
Penyusunan Proposal						
Seminar Proposal Penelitian						
Pengumpulan Data Penelitian						
Analisis Data						
Evaluasi Hasil Penelitian, Pembuatan Laporan Hasil						
Seminar Hasil Penelitian						