

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk mengetahui mikroorganisme yang terdapat pada tangan tenaga medis dan paramedis di Instalasi Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek Bandar Lampung.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Unit Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek selama satu minggu. Dimulai dari bulan Desember sampai Januari 2013 dan pengidentifikasian bakteri selama 2 minggu, dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

C. Bahan dan Alat Penelitian

1. Pengambilan Swab

a. Alat

- Lidi kapas steril
- Ose dan lampu Bunsen

b. Bahan

- Nutrient Broth
- PCA
- Nutrient Agar

2. Media pembiakan selektif dan differensial

- Media gula-gula untuk uji biokimia bakteri Gram negatif dan positif
- Agar SC untuk uji biokimia bakteri Gram negatif
- Agar TSIA untuk uji biokimia bakteri Gram negatif
- Agar SIM untuk uji biokimia bakteri Gram negative dan positif
- Agar darah untuk bakteri gram positif
- Agar Mc. Conkey untuk bakteri gram negatif

3. Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini adalah inkubator, autoklaf, rak dan tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, cawan petri, kapas, bunsen, ose, serta peralatan lainnya yang dipergunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

D. Populasi dan Sampel Penelitian**1. Populasi Penelitian**

Seluruh tenaga medis dan paramedis di Unit Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek

2. Sampel Penelitian

Metode pengambilan sampel menggunakan *accidental sampling* dengan batasan waktu satu minggu dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

3. Kriteria inklusi

- Tenaga medis yaitu dokter umum dan dokter spesialis dan paramedis meliputi petugas kesehatan, bidan, perawat yang menyetujui mengikuti penelitian.
- Dokter umum dan dokter spesialis yang sedang melakukan tindakan medis (preventif, diagnostik, terapeutik, rehabilitatif) dengan cara berkontak langsung dengan neonatus di Unit Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek Bandar Lampung
- Perawat, bidan, petugas kesehatan yang melakukan tindakan medis dengan cara berkontak langsung dengan neonatus di Unit Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek Bandar Lampung.

4. Kriteria Eksklusi

- Tenaga medis dan paramedis yang tidak menyetujui ikut serta dalam penelitian
- Tenaga medis dan paramedis yang tidak melakukan tindakan medis terhadap neonatus di ruangan Perinatologi Rumah Sakit Abdul Moeloek Bandar Lampung.

E. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel Metode Swab

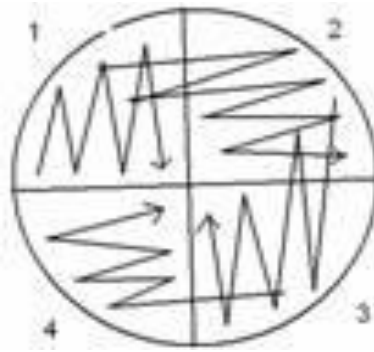
Pengambilan sampel dilakukan setelah tenaga medis dan paramedis melakukan tindakan medis dengan cara berkontak langsung dengan neonatus di ruangan perinatologi. Pengambilan sample dilakukan dengan metode swab. Lidi kapas steril dicelupkan ke cairan Nutrient Broth, kemudian diswab ke bagian telapak tangan dan jari tangan lalu ditanamkan langsung pada nutrient agar dan PCA (Plate Count Agar)

2. Pengolahan Sampel

Spesimen yang sudah diswab tadi ditanam langsung pada nutrient agar dan PCA, lalu dibawa ke laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan diinkubasi selama 24 jam untuk nutrient agar dan 48 jam untuk PCA.

3. Penanaman pada agar Mac Conkey dan agar darah

Penanaman dilakukan pada Mac Conkey dan Blood agar. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam lalu diamati pertumbuhannya. Jika ditemukan bakteri gram positif pada media Blood agar maka dilakukan uji biokimia dan pada agar Mac Conkey jika didapatkan hasil positif maka dilanjutkan dengan uji biokimia .



Gambar 4 . Teknik Penggoresan

4. Uji Biokimia

a. Penanaman pada TSIA

Penanaman dilakukan dengan cara mengambil spesimen bakteri dari agar Mac Conkey dan Blood agar .

Cara penanaman dilakukan dengan goresan zig-zag dan ditusuk

- Dengan ose yang sudah steril dan dingin, diambil koloni bakteri.
- Tutup dari media agar dibuka dan didekatkan dengan api
- Ose yang sudah berisi bakteri digoreskan zig-zag pada permukaan media, ditengah media tidak terlalu keatas ataupun ke bawah dan juga tidak terlalu ke kanan ataupun kekiri.
- Setelah itu ditusukkan ditengah – tengahnya 1 sampai 2 kali.
- Setelah itu diinkubator pada suhu 37° C.

b. Penanaman pada medium Simmon's Citrat

Uji ini dilakukan untuk menentukan bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Hasil uji simon sitrat positif warna biru.

Cara penanaman :

- Dengan menggunakan ose steril, diambil biakan dari NA miring, lalu ditanam pada media Simmon's citrat dengan cara digores secara zig zag pada permukaannya.
- Diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

c. Uji Indol

- Dengan menggunakan ose steril, diambil sebagian koloni dari NA miring lalu diinokulasikan pada media indol dengan cara diaduk, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.
- Pada media indol ditambahkan 1-2 tetes reagen kovacs.

d. Uji SIM (Sulfat Indol Motility)

- Dengan menggunakan ose steril, diambil koloni dari biakan Mc. Conkey agar, kemudian ditanam pada media SIM dengan cara menusuk ose tegak lurus.
- Inkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam.

e. Uji Gula-gula

- Disiapkan biakan bakteri yang tidak diketahui pada agar miring.
- Kawat ose dengan ujung yang membulat dipanaskan sampai berpijar, kemudian didinginkan.
- Setelah dingin, biakan bakteri pada agar miring yang telah

diketahui gram negatif diambil dengan kawat ose ujung (agar jangan dicungkil).

- Lalu ditanamkan bakteri yang ada pada kawat ose pada masing-masing media gula dari glukosa, laktosa, altosa, maltosa, dan sakarosa.
- Nama dan tanggal penamaan ditulis pada tiap tabung. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

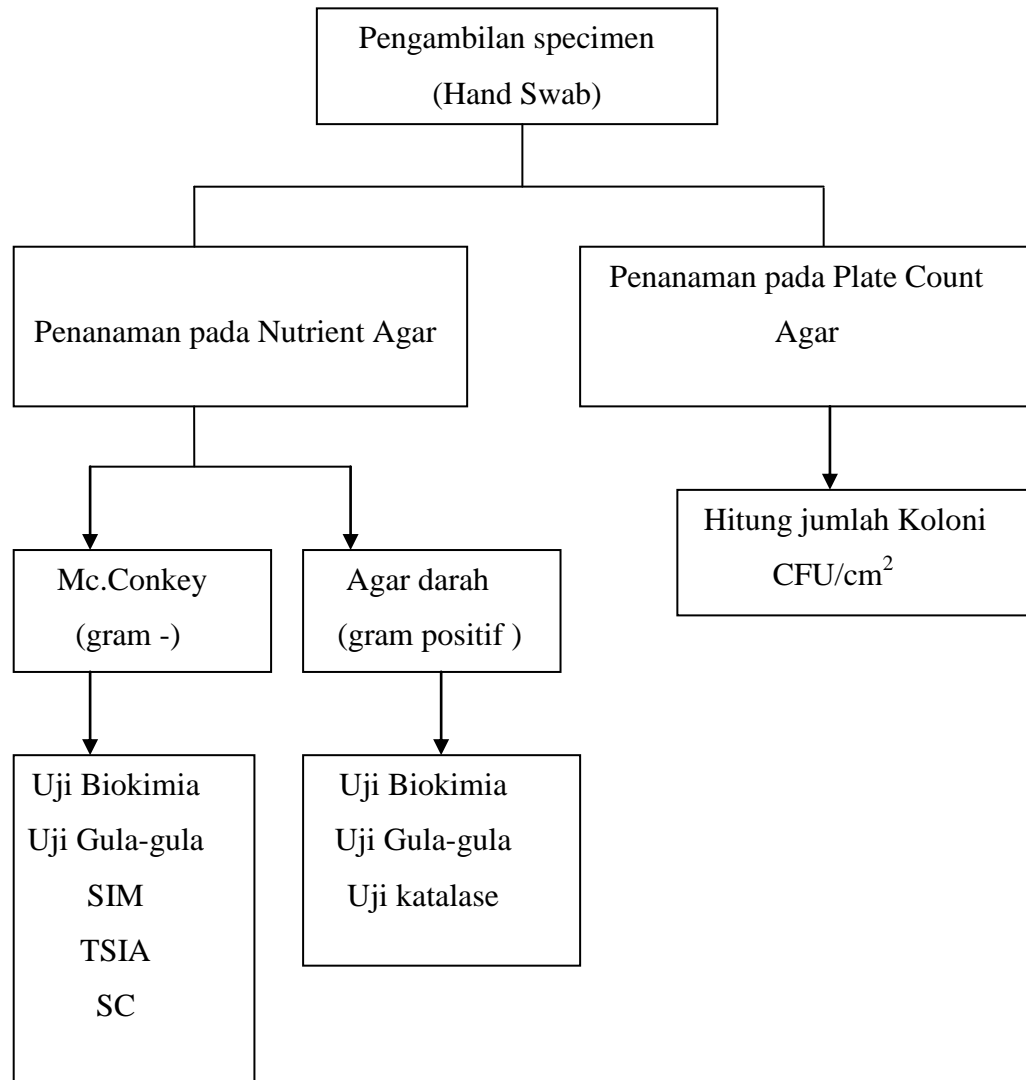
f. Uji Katalase

Uji katalase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase. Dilakukan dengan cara : di atas kaca objek ditetesi satu tetes H₂O₂ 3%, ditambahkan koloni bakteri dan langsung diamati.

5. Penghitungan Angka Kuman

Koloni kuman yang tumbuh setelah diinkubasi dihitung dengan persyaratan sebagai berikut:

1. Koloni besar, kecil, menjalar dihitung 1 koloni karena dianggap berasal dari satu bakteri.
2. Penghitungan dapat dilakukan secara manual dengan memberi tanda titik pada koloni yang sudah dihitung (Soemarno, 2000).
3. Kemudian hasil dimasukkan ke dalam satuan CFU/ cm².

F. Alur Penelitian**Gambar 5. Alur Penelitian**

G. Definisi Operasional

Tabel 2 . Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil
Mikroorganismepada tangan penyebab Infeksi	Bakteri, Jamur atau virus yang menempel pada tangan meliputi punggung tangan, kuku, jari dan sela-sela jari yang dapat menyebabkan infeksi	Identifikasi bakteri	Kultur bakteri, pembiakan bakteri dan uji biokimia	+/-

H. Pengolahan dan Penyajian Data

Data yang diperoleh dikumpulkan melalui pencatatan hasil identifikasi bakteri pada tangan berdasarkan pemeriksaan mikroskopis dan biakan.

Data disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik.