

III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif laboratorik dengan pendekatan *cross sectional*, menggunakan metode difusi dengan memakai media Agar Darah Domba (ADD) dan cakram cefoxitin serta menggunakan media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Hasil penelitian diperoleh dengan mengetahui adanya perubahan warna pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) serta mengukur besarnya diameter zona hambat cakram cefoxitin terhadap isolat bakteri uji pada medium agar untuk mengetahui adanya *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* pada tenaga medis di *Intensive Care Unit* (ICU) dan Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di ruang *Intensive Care Unit* (ICU) dan Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek, sedangkan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada bulan Desember 2012-Januari 2013.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tenaga medis dan paramedis yang bekerja di ruang *Intensive Care Unit* (ICU) dan Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek. Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan *simple random sampling*.

Rumus besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah

(Sastroasmoro, 2011):

$$n = \frac{Z\alpha^2 PQ}{d^2}$$

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,23 \times (1-0,23)}{0,10^2}$$

$$n = \frac{3,8416 \times 0,23 \times 0,77}{0,01}$$

$$n = 68,035$$

$$n = 68$$

Keterangan:

n = Besar sampel

Z α = Tingkat kemaknaan (ditetapkan: 1,96)

P = Proporsi (dari pustaka: 0,23)

Q = 1-P (1-0,23)

d = Tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki (ditetapkan: 0,10)

Proporsi yang dimasukkan dalam rumus tersebut berasal dari tinjauan pustaka yang menyebutkan bahwa prevalensi MRSA di Indonesia pada tahun 2006 sebesar 23,5% (Sulistyaningsih, 2010). Berdasarkan rumus tersebut maka jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah

68 sampel. Sampel berasal dari swab hidung tenaga medis dan paramedis yang dibagi menjadi dua, yaitu sebagian berasal dari ruang ICU dan sebagian lagi berasal dari ruang perawatan bedah. Sampel penelitian ini berasal dari tenaga medis dan paramedis di Ruang *Intensive Care Unit* (ICU) dan Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek dengan kriteria:

3.3.1 Kriteria Inklusi

Tenaga medis yang bekerja di ruang *Intensive Care Unit* (ICU) dan ruang perawatan bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek.

3.3.2 Kriteria Eksklusi

Tenaga medis yang tidak menyetujui untuk berpartisipasi dalam penelitian ini.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat *Staphylococcus aureus* dari swab hidung tenaga medis dan paramedis.

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah persentase *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

3.5 Definisi Operasional

Dalam penelitian ini terdapat beberapa istilah yang harus dijelaskan secara eksplisit sehingga tidak menimbulkan salah persepsi dalam pemahamannya, antara lain:

3.5.1 *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA):

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap pemberian antibiotik golongan penisilin dan sefalosporin, sehingga menjadi penyebab utama dalam infeksi nosokomial.

3.5.2 Antibiotik:

Obat yang digunakan untuk mengukur zona hambat, yaitu cefoxitin 30 µg.

3.5.3 Daya Hambat:

Kemampuan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara maksimal yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada media Agar Darah Domba (ADD).

3.5.4 Resistensi:

Keadaan terbentuknya zona hambat pada media Agar Darah Domba (ADD) ≤ 21 mm.

3.5.5 Sensitif:

Keadaan terbentuknya zona hambat pada media Agar Darah Domba (ADD) ≥ 22 mm.

3.6 Bahan dan Alat Penelitian

3.6.1 Bahan

- a. Isolat bakteri swab hidung dari tenaga medis dan paramedis yang berada di ruang *Intensive Care Unit* (ICU) dan Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek.
- b. Cakram Antibiotik cefoxitin 30 µg.
- c. Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan media Agar Darah Domba (ADD).

3.6.2 Alat

Alat-alat yang dipakai adalah alat-alat yang biasa dipakai di Laboratorium Mikrobiologi, seperti lemari pengering (inkubator), autoklaf, pinset, Bunsen, cawan petri, lidi kapas steril, tabung reaksi, ose, serta peralatan lain yang lazim digunakan di laboratorium mikrobiologi.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Sterilisasi alat

Alat yang digunakan dalam penelitian dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dibungkus dengan kertas lalu di sterilisasi di oven pada suhu 160° C selama ±1 jam.

3.7.2 Pembuatan *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Bahan yang digunakan terdiri dari 10 gr pepton, 10 gr manitol, 15 gr agar, 75 gr sodium klorida, 0,25 gr *Phenol red*.

Cara pembuatan:

- a. Bahan dilarutkan dalam 500 ml aquades, kemudian dipanaskan sampai bahan terlarut sempurna.
- b. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121° C selama \pm 15 menit.
- c. Media didinginkan sampai teraba hangat-hangat kuku, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril.
- d. Media dibiarkan membeku (menjadi padat).

3.7.3 Pembuatan Media Agar Darah Domba

- a. *Nutrient Agar* sebanyak 8 gram dilarutkan dalam 400 ml aquades.
- b. Kemudian bahan agar dipanaskan di dalam Erlenmeyer sampai media terlarut sempurna.
- c. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121° C selama \pm 15 menit.
- d. Setelah media dingin sampai teraba hangat-hangat kuku, ditambahkan darah domba sebanyak 17 ml ke dalam Erlenmeyer. Kemudian media dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku.

3.7.4 Pengambilan dan isolasi spesimen *Staphylococcus aureus*

Isolat diambil dengan cara swab pada bagian nares anterior dengan menggunakan lidi kapas steril yang telah dibasahi dengan *nutrient broth*. Isolat diambil dari kedua lubang hidung kemudian ditanam pada media *nutrient agar*, diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

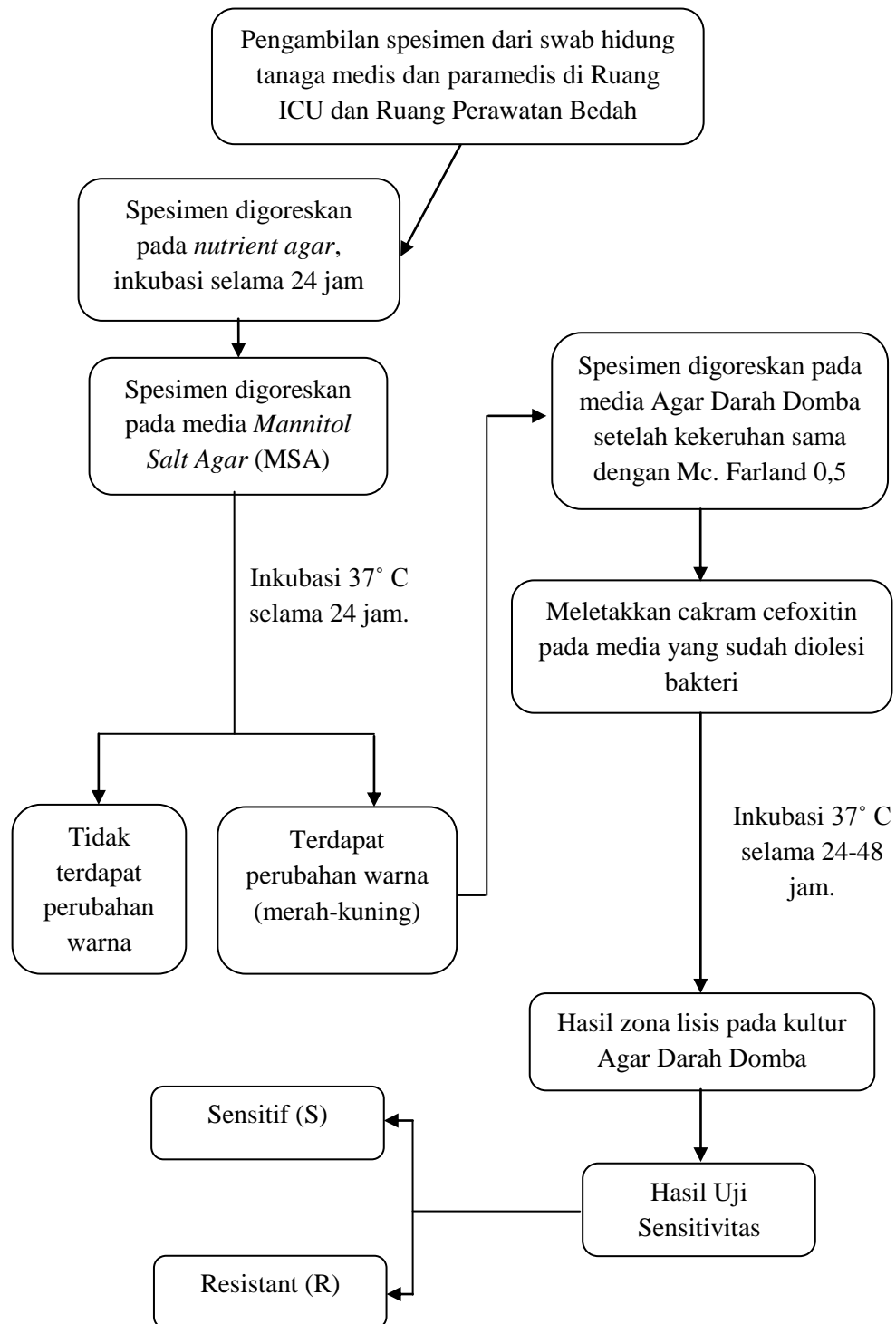
3.7.5 Pengukuran Sensitivitas Antibiotik

- a. Setelah terdapat pertumbuhan koloni pada *nutrient agar* maka dengan menggunakan ose bulat, koloni ditanamkan pada media *Manitol Salt Agar (MSA)* kemudian didiamkan 2-5 menit agar bakteri meresap ke dalam media. Setelah itu kultur diinkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam. Kemudian diperhatikan perubahan warna yang terjadi pada media. Apabila media berubah menjadi kuning, maka bakteri tersebut dapat tumbuh dalam suasana garam serta dapat memfermentasikan manitol. Perubahan warna pada media menandakan bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus*.
- b. Kultur positif *Staphylococcus aureus* ditanamkan kembali pada media *nutrient broth* dan diinkubasi selama 6 jam atau lebih sampai kekeruhannya sama dengan larutan Mc. Farland 0,5. Kemudian ditanam pada media Agar Darah Domba (ADD).
- c. Cakram cefoxitin diletakkan pada kultur media Agar Darah Domba dengan menggunakan pinset. Jarak antara cakram satu dengan yang lain ± 15 mm sehingga didapatkan kontak yang

baik antara cakram obat dengan bakteri, kemudian di inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

- d. Zona hambat yang terbentuk disekitar cakram antibiotika diukur menggunakan penggaris dengan memakai satuan mm.

3.8 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 4. Skema Prosedur Penelitian

3.9 Analisis Data

Tabel 5. Tabel Analisis Data

No	Ruang	Tingkat Sensitivitas		<i>Staphylococcus</i> <i>sp.</i>	Tidak ada Pertumbuhan	Total
		<i>Staphylococcus aureus</i> Resisten	Sensitif			
1	ICU					
2	RPB 1					
3	RPB 2					

Ket : RPB = Ruang Perawatan Bedah
ICU = *Intensive Care Unit*