

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Desain *cross-sectional* dengan menggunakan data sekunder dipergunakan dalam penelitian ini untuk mengetahui pola kepekaan bakteri terhadap antimikroba pada pasien infeksi saluran kemih.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Bagian Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian dimulai dari bulan Desember 2007 sampai dengan Desember 2008.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah bakteri Gram negatif yang dikultur dari isolat urin pada penderita infeksi saluran kemih dari tahun 2001-2005.

3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.1. Kriteria inklusi

1. Bakteri Gram negatif
2. Isolat dari urin pada pasien ISK tahun 2001-2005

3.4.2. Kriteria eksklusi

1. Data tidak lengkap atau cacat
2. Jumlah isolat < 30

3.5. Besar Sampel

Besar sampel (n) dapat ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$n = \frac{Z\alpha^2 \times p \times q}{d^2}$$

$Z\alpha = 1,96$ (deviat baku normal untuk $\alpha = 0,03$)

$p = \text{proporsi} = 0.5$

$q = 1 - p = 0.5$

$d = \text{ketepatan absolut yang dikehendaki} = 0,1$

$$n = \frac{(1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5}{(0.1)^2} = 96.04 \approx 97$$

Jadi, sampel yang dibutuhkan adalah sebanyak 97 isolat urin pada pasien ISK dan dilakukan uji sensitivitas. Namun yang kami ambil adalah semua data yang memenuhi kriteria inklusi.

3.6. Definisi Operasional

1. Sensitif: jumlah koloni pada media berisi obat tidak ada atau kurang dibandingkan dengan jumlah koloni pada kontrol (suspensi bakteri 10^{-5} mg/ml)
2. Resisten: jumlah koloni pada media berisi obat sama atau lebih dibandingkan dengan jumlah koloni pada kontrol (suspensi bakteri 10^{-5} mg/ml) berdasarkan *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS).
3. Urin: bahan yang dikeluarkan dari saluran kemih yang dalam hal ini kemungkinan mengandung kuman
4. Informasi laboratorium yang tidak lengkap: ada bagian dari data yang tidak berisi informasi mengenai hasil uji sensitivitas.
5. Antibiotik: zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi yang dapat menghambat atau membasmi mikroba jenis lain.
6. Resistensi: Kemampuan suatu bakteri untuk bertahan dari serangan antibiotik untuk mempertahankan hidup dan dinyatakan resisten berdasarkan *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS).
7. WHONET 5.4: Sebuah software yang digunakan untuk mengolah data-data laboratorium mengenai resistensi bakteri terhadap antibiotik. Dapat diakses di <http://www.who.int/drugresistance/whonetsoftware>

3.7. Cara Kerja

3.7.1. Data diperoleh dari database hasil uji resistensi di Laboratorium Mikrobiologi FKUI dari tahun 2001 sampai 2005. Peneliti mengolah database tersebut menggunakan *software* khusus yaitu WHONET 5.4.

3.7.2. pemeriksaan uji resistensi menggunakan metode agar difusi cakram dan dilakukan cara Kirby-bauer (*standard single disk method*) yaitu:

- Biakan bakteri yang berumur 24 jam pada agar miring seperti *Escherichia coli* dan pada agar darah miring dengan menggunakan sengkeliitanam pada 2.5 ml kaldu Muller Hinton, lalu diinkubasi selama 2 jam pada suhu 35 °C, atau bila jumlah kuman cukup, dapat langsung disuspensikan sampai Mc Farland 0.5 kaldu Muller Hinton.
- Suspensi biakan bakteri kemudian disesuaikan kekeruhan dengan standar kekeruhan /nephelometer *Mc-farland* 0.5
- Dengan menggunakan swab kapas steril, swab kapas ini dicelupkan dalam suspensi biakan bakteri tadi setelah diperas dengan cara menekan dan memutar swab kapas pada dinding tabung diluar cairan sebanyak 2 kali, lalu diusapkan pada lempeng agar Muller Hinton dengan cara garis menggaris, rapat, sejajar, lalu diputar 60° dan dilakukan garisan serupa dengan lidi kapas yang sama, sampai 3x, hingga terjadi penyebaran biakan bakteri secara merata keseluruh permukaan agar.
- Biakan bakteri pada lempeng agar ini dibiarkan mengering selama 4-5 menit (tidak boleh lebih dari 15 menit)
- Kemudian cakram antibiotik diletakkan pada lempeng agar tersebut yang berdiameter 10 cm sebanyak 8 cakram antibiotika dengan menggunakan pinset atau *dispenser disc*.
- Selanjutnya lempeng agar diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam.
- Keesokan harinya dilihat ada tidaknya zona hambatan yang terbentuk disekitar cakram antibiotika
- Penulisan dan intepretasi hasil

- Pengukuran diameter zona hambatan dengan menggunakan alat ukur geser (caliper) atau penggaris pada zona yang jernih, kemudian dicatat pada lembar uji sensitivitas
- Pembacaan dan evaluasi kepekaan mengikuati petunjuk tabel yang dibuat oleh ICLS
- Pencatatan data menggunakan *software* WHO NET 5.4

3.8. Rencana Pengolahan dan Analisis Data

Data sekunder yang diperoleh, diolah dengan menggunakan program *software* WHO NET 5.4 dan program Microsoft Excel 2007.

3.9. Etika Penelitian

Penelitian ini mengikuti kaidah sesuai etika penelitian yang berlaku dengan merahasiakan semua data pasien yang ada sehingga sampel dari pasien tidak dapat dilacak keberadaannya. Pada penelitian ini tidak menggunakan subjek manusia maupun binatang percobaan.