

3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain potong lintang (*cross-sectional*) untuk mengetahui pola resistensi bakteri terhadap kuinolon. Desain ini dipilih dengan pertimbangan sebagai berikut:

1. Studi potong lintang menghemat waktu, biaya dan tenaga.
2. Hasil penelitian dapat diinterpretasikan dengan mudah dan cepat tanpa melalui pengolahan data yang rumit.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian dimulai dari bulan Juli 2007 sampai dengan bulan Juli 2008

3.3. Populasi Penelitian

3.3.1. Populasi Target

Populasi target penelitian ini adalah data berbagai isolat yang dikirim ke LMK FKUI

3.3.2. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah sampel darah yang dikirim dari tahun 2001-2006 ke LMK FKUI

3.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel adalah seluruh anggota populasi terjangkau yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

3.5. Besar Sampel

Besar sampel (n) minimum untuk penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus:⁸

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

Keterangan:

n = besar sampel

z_α = deviat baku normal untuk $\alpha = 1.96$ ($\alpha = 0,05$; z_α dua arah)

P = proporsi = 0.5

Q = 1-P = 0,5

d = tingkat ketepatan absolut = 0,1

Sehingga akan didapatkan perhitungan sebagai berikut:

$$n = \frac{(1,96)^2 \times (0,5 \times 0,5)}{(0,1)^2} = 96,04 \approx 96 \text{ orang}$$

Jadi, sampel yang dibutuhkan adalah sebanyak 96 isolat darah yang dilakukan uji resistensi. Namun, jumlah isolat yang peneliti ambil adalah semua data yang memenuhi kriteria inklusi.

3.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.6.1. Kriteria Inklusi

Karakteristik umum yang harus dipenuhi subyek dalam penelitian ini adalah data yang berasal dari kultur darah yang dilakukan dari tahun 2001-2006 di laboratorium mikrobiologi FKUI

3.6.2. Kriteria Eksklusi

Subyek yang telah memenuhi kriteria inklusi di atas akan tidak diikutsertakan dalam penelitian ini apabila:

- Jumlah isolat yang diuji kurang dari 10 isolat dalam 3 tahun berturut-turut

3.7. Cara Kerja

Subyek penelitian ini menggunakan data sekunder dari laboratorium mikrobiologi FKUI dari tahun 2001-2006. Data sekunder ini diperoleh dari hasil pemeriksaan identifikasi bakteri dan uji sensitivitas pada spesimen darah yang dikirim ke LMK selama periode 2001-2006. Data tersebut kemudian diolah menggunakan piranti lunak WHONET 5.4. piranti lunak ini dapat menganalisis data sekunder yang peneliti miliki sehingga akan memudahkan peneliti dalam menyimpulkan hasil penelitian. Data sekunder pada penelitian ini berasal dari hasil uji resistensi terhadap berbagai isolat darah yang dikirim ke LMK FKUI selama periode 2001-2006. Uji resistensi bakteri terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi sesuai ketentuan CLSI, sebagai berikut (tidak dikerjakan oleh peneliti):

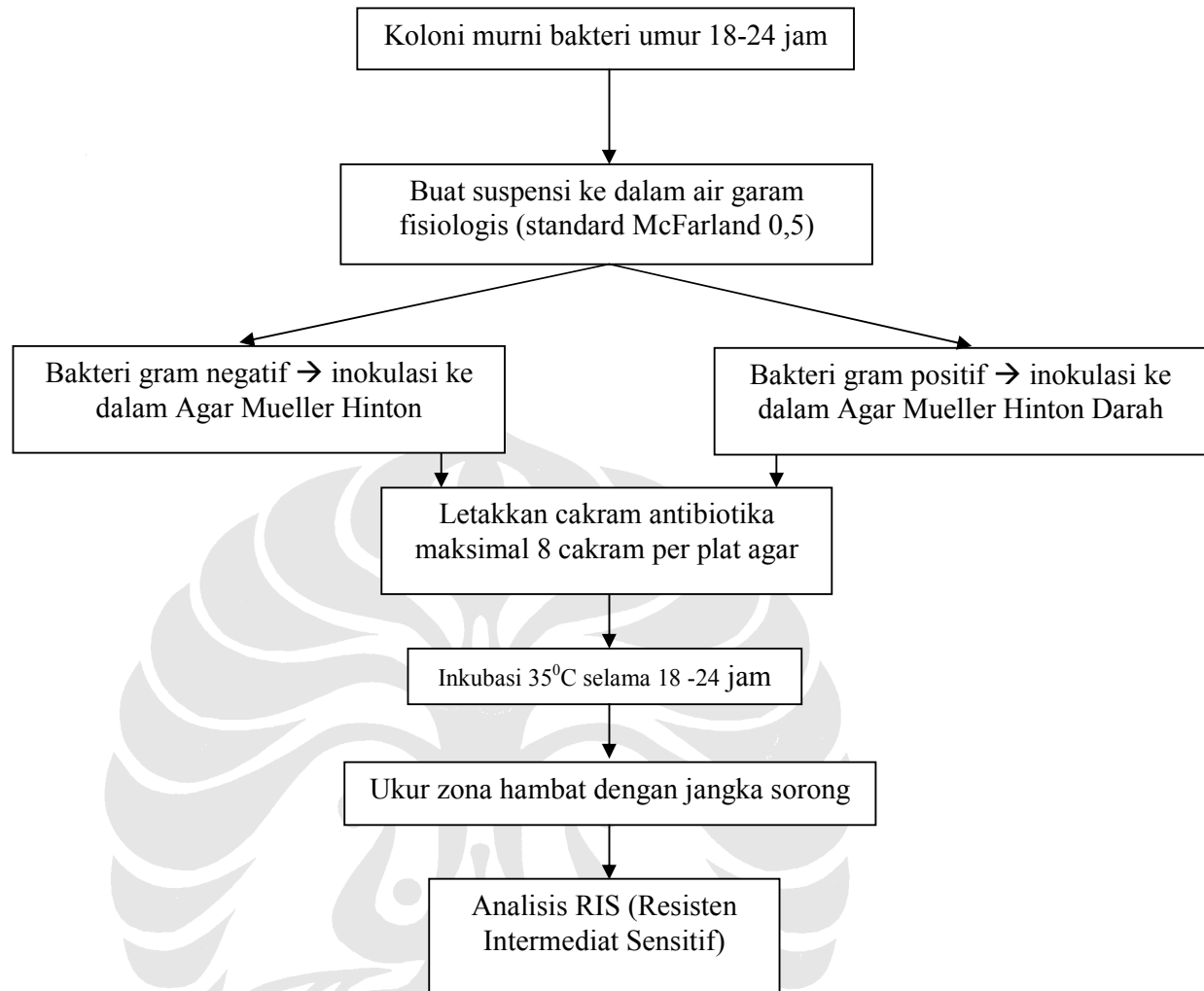
1. Alat dan bahan:

- **Alat-alat:**

- a. Inkubator
- b. Ose/sengkelit
- c. Lampu spiritus
- d. Tabung + rak
- e. Pinset
- f. Usap kapas steril
- g. Jangka sorong

- **Bahan:**

- a. Agar Mueller Hinton
- b. Agar Mueller Hinton Darah
- c. Air garam fisiologis steril
- d. Larutan McFarland 0,5
- e. Cakram antibiotik



2. Medium

Berdasarkan CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) media yang digunakan Mueller-Hinton Agar dengan tebal 4 mm. Untuk bakteri tertentu:

- *Streptococcus sp.* menggunakan agar Mueller-Hinton ditambah darah domba 5%
- *Neisseria gonorrhoeae* menggunakan agar coklat
- *Haemophilus influenzae* menggunakan agar coklat
- Medium disimpan pada 4°C sampai satu jam sebelum digunakan , medium dikeluarkan ke suhu kamar dan diletakkan terbalik untuk pengeringan

3. Cara Pemeriksaan

Menggunakan metode agar difusi cakram dan dilakukan cara Kirby-Bauer (*Standard Single Disc Method*).

- Biakan bakteri murni yang berumur 24 jam dibuat suspensi ke dalam 2,5 ml NaCl fisiologis sampai kekeruhan mencapai McFarland 0,5
- Swab kapas dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu diperas dengan cara menekan dan memutar swab kapas pada dinding tabung diluar cairan sebanyak dua kali, lalu diusapkan pada lempeng agar Mueller-Hinton secara merata ke seluruh permukaan agar.
- Biakan bakteri pada lempeng agar ini dibiarkan mengering selama 4-5 menit (tidak boleh lebih dari 15 menit).
- Kemudian letakkan cakram antibiotik pada lempeng agar menggunakan pinset atau *dispenser disc*. Pada plat agar berdiameter 10 cm dapat diletakkan sebanyak 6 cakram antibiotik.
- Selanjutnya lempeng agar tersebut diinkubasi pada suhu 35⁰C selama 18-24 jam.
- Keesokan harinya dilihat ada tidaknya zona hambatan yang terbentuk di sekitar cakram antibiotik.
- Pemeriksaan harus diulang bila biakan bakteri:
 - tidak tumbuh merata.
 - Terkontaminasi.
 - belum tumbuh, eramkan lagi selama 48 jam.
- Untuk kuman yang memerlukan CO₂, inkubasi dilakukan dengan pada inkubator CO₂ atau *Candle Jar*.
- Untuk kuman-kuman: *Streptococcus pneumoniae*, MRSA pembacaan dilakukan setelah 20-24 jam.

4. Penulisan dan Interpretasi hasil

- Pengukuran zona hambatan dengan menggunakan alat ukur geser (Caliper) atau penggaris pada zona yang jernih.
- Interpretasi hasil

Pembacaan dan evaluasi kepekaan mengikuti petunjuk tabel yang dibuat oleh CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*), yaitu S (Sensitif), I (Intermediat), dan R (Resisten).

3.8. Definisi Operasional

Dalam penelitian ini peneliti menggunakan istilah-istilah yang didefinisikan sebagai berikut:

1. **Antimikroba** : Obat pembasmi mikroba khususnya mikroba yang merugikan manusia. Dalam pembicaraan disini, mikroba yang dimaksud terbatas pada jasad renik yang tidak termasuk golongan parasit
2. **Antibiotik** : Agen kemoterapeutik yang dapat berasal dari mikroba tertentu maupun sintetik yang memiliki aktivitas melawan bakteri
3. **Sensitif** : Kategori hasil tes sensitifitas antimikroba yang menunjukkan bahwa antimikroba dapat menjadi pilihan tepat untuk tatalaksana infeksi yang disebabkan oleh isolat bakteri yang diperiksa.
4. **Intermediat** : Kategori hasil tes sensitifitas antimikroba yang menunjukkan bahwa antimikroba masih ada kemungkinan efektif terhadap isolat yang diperiksa tetapi tetapi mungkin lebih lemah dalam menghadapi isolat yang sensitif.
5. **Resisten** : Kategori hasil tes sensitifitas antimikroba yang menunjukkan antimikroba bukan pilihan yang tepat untuk tatalaksana infeksi yang disebabkan oleh isolat bakteri yang diperiksa, dapat disebabkan oleh organisme tidak dapat dihambat dengan kadar obat yang dapat diterima atau karena hasil pemeriksaan berhubungan dengan mekanisme resistensi yang membuat keberhasilan terapi diragukan.
6. **Bakteremia** : Keberadaan bakteri dalam aliran darah
7. **Kultur** : Perkembangbiakan mikroorganisme atau sel jaringan hidup dalam media khusus yang kondusif bagi pertumbuhannya
8. **Kultur darah** : Spesimen darah yang digunakan untuk kultur bakteri

9. **WHONET 5.4** : Piranti lunak yang diterbitkan oleh WHO dan dapat menganalisis data hasil pemeriksaan mikrobiologi di Laboratorium Mikrobiologi Klinik FKUI.

3.9. Persetujuan Setelah Penjelasan (*Informed Consent*)

Penelitian ini tidak membutuhkan “persetujuan setelah penjelasan” atau *informed consent* dari subjek yang bersangkutan karena data yang didapatkan sudah merupakan data sekunder.

