

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah berupa penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional*, untuk mengetahui perbedaan insidensi infeksi nosokomial dan bakteri penyebab infeksi saluran kemih nosokomial antara ruang ICU dan bangsal di rumah sakit PKU Muhammadiyah.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dari penelitian ini adalah di rumah sakit PKU Muhammadiyah Yogyakarta dan pengujian sampel pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UMY. Waktu penelitian adalah pada bulan Juni-Oktober 2011.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi Terjangkau

Populasi yang diambil pada penelitian yang akan dilakukan peneliti adalah pasien-pasien rawat inap di ruang ICU dan ruang bangsal di rumah sakit PKU Muhammadiyah Yogyakarta.

2. Populasi Target

Pasien yang rawat inap di ruang ICU dan di ruang bangsal yang menderita infeksi pada saluran kemih dalam waktu lebih atau kurang dari 48 jam

3. Besar Sampel

Sampel yang diteliti adalah pasien di ruang ICU dan di ruang bangsal PKU Muhammadiyah Yogyakarta yang menderita infeksi nosokomial pada saluran kemih. Besar sampel yang diambil dalam penelitian ini menggunakan metode *purposive sampling* yang mana sampel yang diambil sesuai periode penelitian serta sampel yang di ambil di tentukan oleh peneliti dengan berbagai macam pertimbangan. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 sampel.

D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Penelitian

a. Kriteria Inklusi

1. Pasien yang rawat inap di ruang ICU dan bangsal di rumah sakit PKU Muhammadiyah
2. Pasien dengan masa rawat inap di rumah sakit lebih dari 48 jam
3. Kooperatif

b. Kriteria Eksklusi

1. Pasien dengan riwayat gangguan ginjal sebelumnya seperti glomerulonefritis, pyelonefritis, dll sebelum masuk rumah sakit
2. Pasien yang tidak kooperatif

E. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas (independen)

Bakteri penyebab Infeksi saluran kemih nosokomial

b. Variabel Terikat (dependen)

Insidensi infeksi nosokomial pada saluran kemih di ruang ICU dan di ruang bangsal

F. Definisi Operasional Penelitian

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah insidensi infeksi nosokomial di ruang ICU dan di ruang bangsal, dimana pengertian infeksi nosokomial adalah infeksi yang didapatkan selama atau sebagai akibat perawatan di rumah sakit (Horrison, 1999) serta ICU yang memiliki arti sebagai unit perawatan intensif (Dorland, 2003). Peneliti akan menggunakan rekam medis untuk mengetahui insidensi dengan melihat lama rawat dari pasien dan riwayat penyakit pasien sebelum masuk ke rumah sakit.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bakteri penyebab yang terjadi pada infeksi saluran kemih nosokomial yang nantinya akan dilihat dengan melakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis serta uji biokimia.

G. Instrumen Penelitian

1. Alat

Lampu spritus/bunsen, korek api, ose bulat, kapas lidi steril, pinset, cawan petry, inkubator, tabung reaksi, kertas label, obyek glass, mikroskop, sarung tangan, masker.

2. Bahan

Spesimen (urin), media Mac Conkey, media agar darah, media MSA, akuades steril, minyak emersi, formalin, cat gram A (kristal violet 2 gram, etil alkohol 95% 20 ml, ammonium oksalat 0,8 gram, dan akuades 80 ml), cat gram B (yodium 1 gram, kalium yodida 2 gram, dan akuades 300 ml), cat gram C (aseton 50 ml dan Etil alkohol 95 % 50 ml), Cat Gram D (Safranin 0,25 gram, Etil alkohol 95 % 10 ml, Akuades 90 ml).

H. Cara Kerja atau Pengumpulan Data

1. Tahap persiapan

Telaah judul penelitian, penyusunan proposal, pembuatan surat izin penelitian, persiapan lokasi penelitian

2. Tahap pelaksanaan

a. Pengambilan sampel dan pengamatan rekam medis

Sampel yang diambil adalah sampel urin melalui kateterisasi. Sampel urin diambil sebanyak kurang lebih 10 ml ke dalam tabung urin dengan prinsip steril. Setelah pengambilan urin dilakukan, peneliti melihat rekam medis untuk mengetahui masa rawat pasien dan penyakit-penyakit yang menyertai. Pengambilan sampel urin melalui kateter sama akuratnya dengan pengambilan sampel melalui punksi suprapubik.

b. Transportasi spesimen

1. Semua spesimen urin dimasukkan lemari pendingin segera atau langsung diperiksa dalam waktu tidak melebihi 2 jam.
2. Jika urin harus ditranspor untuk jarak jauh urin dipak dalam es kering atau dipreservasi dengan cara : penambahan 0,5 gram *boric acid* pada kontainer steril kemudian diisi dengan urin (kira – kira 28 ml, atau konsentrasi 1,8%). Penggunaan *boric acid* untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menurunkan jumlahnya dan bekerja sebagai buffer untuk mencegah kerusakan leukosit.

c. Pemiakan sampel urin di media agar darah dan Mac Conkey

1. Pakailah sarung tangan dan masker untuk menghindari terjadinya kontaminasi flora normal pada pemiakan bakteri.

2. Pijarkan seluruh panjang kawat ose di atas lampu bunsen. Lewatkan juga tangkainya di atas api. Dinginkan beberapa saat.
 3. Celupkan ose pada urin penderita infeksi saluran kemih sampai mengisi lingkaran ose. Volume urin yang diambil sesuai ukuran ose standar yaitu 0,05 ml
 4. Goreskan urin pada media tanam menggunakan ose.
 5. Berilah nomor pada media tanam sesuai dengan nomorurut penderita.
 6. Inkubasikan dalam suhu 37°C selama 24 jam.
 7. Amati karakteristik bakteri secara makroskopis dan mengitung angka kuman dengan rumus : jumlah koloni $\times 10 \times 1/0,05$ ml
- d. Identifikasi bakteri
- Identifikasi secara mikroskopis
- Uji yang dilakukan pada cara ini adalah dengan pengecatan gram. Cara ini dilakukan dengan pengecatan gram secara berurutan, yaitu :
- 1) Obyek glass dibakar diatas lampu bunsen. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan lemak dan organisme-organisme yang mungkin terdapat pada obyek glass.
 - 2) Teteskan larutan formalin sebanyak satu tetes. Hal ini dilakukan untuk mensterilkan obyek glass.

- 3) Pijarkan seluruh panjang kawat ose di atas lampu bunsen.
Lewatkan juga tangkainya di atas api. Dinginkan beberapa saat.
- 4) Ambil satu atau dua koloni bakteri pada media tanam dengan menggunakan ose, letakkan pada obyek glass lalu ratakan. Biarkan kering sesaat, lalu letakkan obyek glass di atas lampu Bunsen.
- 5) Pada sediaan yang telah tersedia, tuanglah zat warna Karbol-Gentian ungu (Gram A) biarkan 1 menit.
- 6) Zat warna dibuang dan segera diberi larutan lugol (Gram B) (tanpa dicuci terlebih dahulu), biarkan selama 1 menit.
- 7) Lugol dibuang dan sediaan dicuci dengan alcohol 96% (Gram C) sampai tidak ada lagi zat warna yang terlarut.
- 8) Cuci dengan air bersih.
- 9) Tuangi larutan air Fuchsin (Gram D) dan biarkan selama 1 menit.
- 10) Cuci lagi dengan air kran sampai bersih.
- 11) Keringkan.
- 12) Lihatlah dibawah mikroskop cahaya sediaan yang telah di cat gram dengan terlebih dahulu ditetesi minyak imersi.
- 13) Lihat dengan perbesaran 1000 kali.

- Identifikasi secara makroskopis

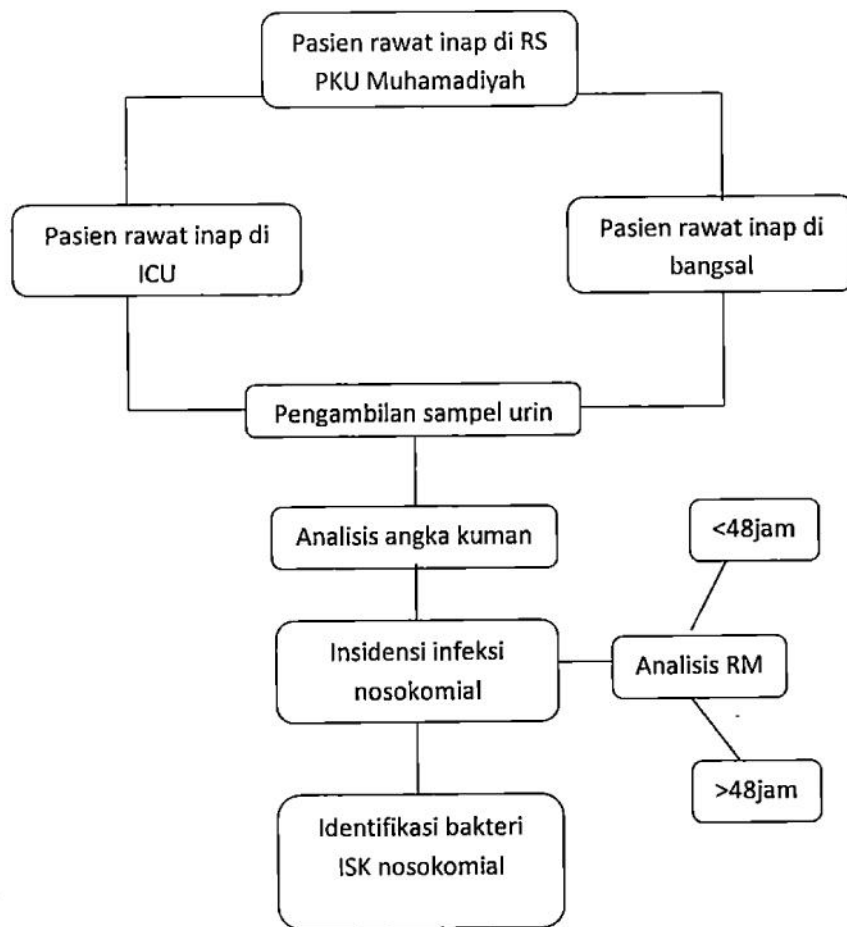
1. Untuk menguji gram negatif menggunakan metode uji biokimia. Uji ini dilakukan dengan menggunakan 4 tabung yaitu, tabung KIA, SSS, LIA, dan MIO yang diinkubasi selama 24 jam dan hasilnya kita lihat dan cocokan melalui tabel identifikasi. Cara kerjanya adalah :
 - a. Ambil ose, pijarkan pada nyala api.
 - b. Ambil bakteri dari media menggunakan ose. Goreskan ose pada bakteri.
 - c. Ose yang berisi bakteri ditusukkan pada deret media biokimia (KIA, LIA, MIO, SSS) secara tegak lurus pada daerah butt dan goreskan zig-zag pada daerah slant.
 - d. Inkubasikan tabung-tabung tersebut pada suhu 37 C selama 24 jam.
2. Untuk menguji gram positif menggunakan uji MSA
Uji MSA :
 1. Ambilah bakteri di media yang sudah dikultur dengan menggunakan ose
 2. Kultur goresan ose tersebut ke dalam media MSA
 3. Inkubasi media pada suhu 37°C dan tunggu selama 24 jam, kemudian lihat hasilnya.

- Tahap akhir

Pembuatan kesimpulan penelitian dan seminar hasil penelitian.

3. Etika Penelitian

- Sebelum melakukan penelitian dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY.
- Semua informasi dan data dalam penelitian ini hanya dipakai untuk keperluan ilmiah dan kode serta identitas subyek dijamin kerahasiaannya.



I. Analisa Data

Data yang diperoleh dibuat tabel, kemudian dihitung persentasi insidensi infeksi nosokomial pada saluran kemih antara ruang ICU dan bangsal