

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian observasi analitik dengan metode *cross sectional*.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa Prodi Kedokteran Umum FKIK UMY. Besarnya sampel yang dipakai dalam penelitian ini dapat dihitung dengan rumus (Snedecor GW & Cochran WG, 1967 ; Lemeshowb dkk, 1997) :

$$n = \frac{Z^2 p q}{d^2} = \frac{Z^2 p (1-p)}{d^2}$$

n = Jumlah sampel minimal yang diperlukan

α = derajat kepercayaan = 95% = 1,96

p = proporsi kejadian rinitis alergi, p = 1,5% = 0,015

q = 1-p (proporsi bukan kejadian rinitis alergi) = 1-0,015 = 0,985

d = limit dari error atau presisi absolute = 5% = 0,05

Jadi :

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,015 \times 0,985}{0,05^2}$$

$$= \frac{3,84 \times 0,0148}{0,0025}$$

$$= 22,7 = 23$$

Jadi besarnya sampel minimal yang diperlukan adalah minimal 23 mahasiswa dengan manifestasi klinik rinitis alergi.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UMY pada bulan Juli tahun 2011 sampai bulan September 2011.

D. Variabel Penelitian

a) Variabel bebas

Bakteri gram negatif Isolat usap hidung dari penderita Rinitis Alergi

b) Variabel Terikat

Zona hambat bakteri gram negatif terhadap antibiotik Amoksisilin dan Siprofloksasin.

E. Definisi Operasional

- a) Rinitis Alergi adalah inflamasi kronis mukosa saluran hidung yang disebabkan berbagai macam alergen. Gejala rinitis alergi antara lain ingus encer, bersin, hidung mampet dan hidung gatal. Alergen yang dapat menyebabkan rinitis alergi adalah pohon rumput, pollen, debu, bulu binatang, tungai debu rumah dan bahan-bahan kimia. Diagnosis rinitis alergi biasanya ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang.

- b) Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metal ungu pada metode pewarnaan gram. Perbedaan gram negatif dengan gram positif pada pemeriksaan mikroskopik adalah bakteri gram negatif berwarna merah muda.
- c) Pola kepekaan kuman adalah hasil uji sensitifitas bakteri terhadap beberapa antibiotik. Penentuan sensitif atau resisten berdasarkan pengukuran lebar zona hambat kuman terhadap antibiotik dan disesuaikan dengan tabel CLSI.

F. Alat dan Bahan Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan untuk pemeriksaan kepekaan bakteri gram negatif terhadap amoksisilin dan siprofloksasin antara lain

1. Bahan

Isolat usap hidung penderita rinitis alergi, media agar *Mc conkey*, media *Tryptic Soy Agar*, cat Gram (gram A,B,C,D) , disk antibiotik amoksisilin dan siprofloksasin.

2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain ; kapas lidi steril, piring petri, tabung reaksi, ose, lampu spiritus, autoklave, pipet ukur, pinset, spekulum hidung dan inkubator.

G. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

Kriteria yang harus dipenuhi oleh subyek agar dapat diikuti sertakan dalam penelitian antara lain subyek merupakan mahasiswa Prodi Kedokteran Umum FKIK UMY yang menderita rinitis alergi dan bersedia dijadikan subyek penelitian.

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria yang menyebabkan subyek yang telah memenuhi kriteria inklusi tidak dapat diikuti sertakan dalam penelitian adalah subyek merupakan mahasiswa Prodi Kedokteran Umum FKIK UMY yang menderita rinitis alergi pada saat dilakukan penelitian sedang mengkonsumsi antibiotik atau obat lainnya dan mahasiswa yang sedang serangan asma.

H. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Populasi yang akan diikuti sebagai sampel penelitian adalah 39 mahasiswa Prodi Kedokteran Umum FKIK UMY yang mempunyai riwayat rinitis alergi diminta mengisi kuesioner. Data kuesioner yang berisi gejala tanda sebagai penderita rinitis alergi. Setelah memenuhi syarat sebagai sampel kemudian diambil usap hidung dengan spekulum hidung.

2. Isolasi bakteri gram negatif

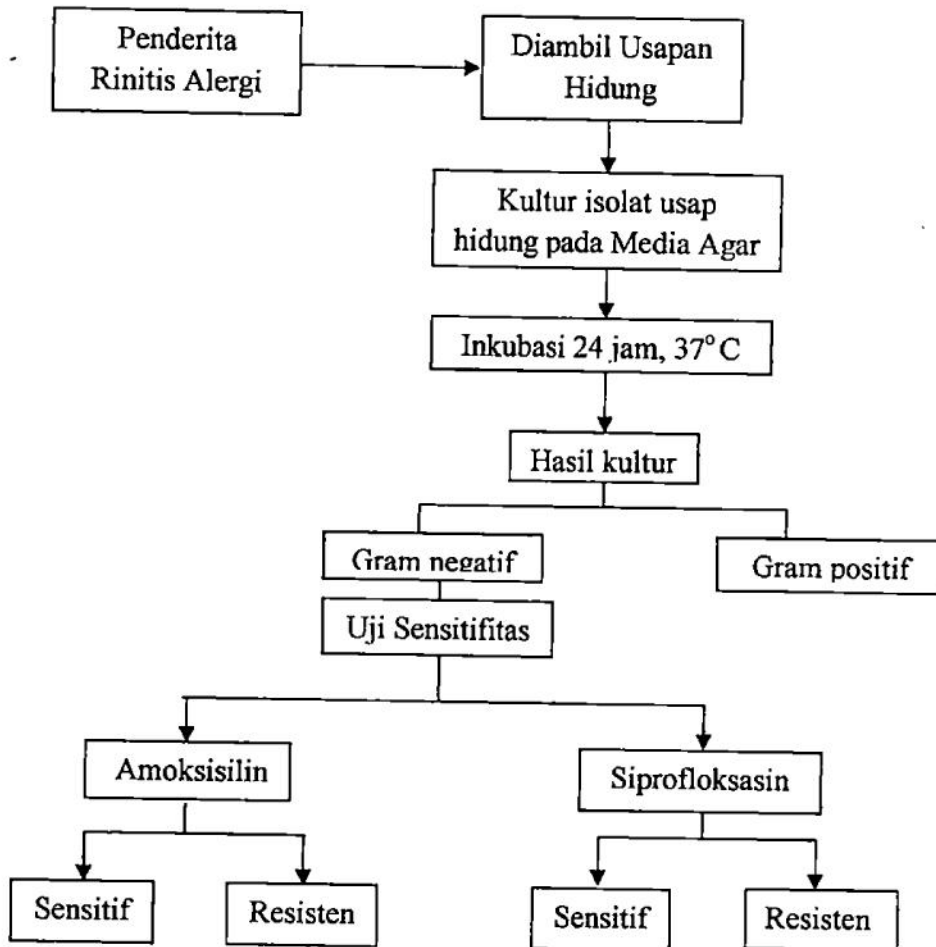
Usap hidung yang sudah diambil, kemudian dibiakkan pada media Mac Konkay. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni-

koloni kuman yang tumbuh kemudian di cat gram dan di identifikasi menggunakan mikroskop. Kuman yang sudah di identifikasi kemudian diuji sensitifitasnya terhadap beberapa antibiotik dengan menggunakan metode difusi Kirby Bauer.

3. Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas dilakukan dengan metode difusi Kirby Bauer. Mula-mula diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar darah, kemudian disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, di inkubasikan selama 4 jam pada suhu 37° C. Suspensi di atas ditambah dengan akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai standar konsentrasi kuman 10⁸ CFU (Colony Forming Unit) per ml. Setelah itu kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi kuman lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media *Tryptic Soy Agar* hingga rata. Biarkan selama 5 menit, kemudian letakkan kertas disk antibiotik di atasnya. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Hasilnya diamati dan diameter hambatan zona diukur (irawati, 2004). Kepekaan bakteri dapat diketahui dengan mengukur garis tengah zona hambatan dan dibandingkan dengan tabel interpretasi zone diameter standar dari *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (Chugh, 2011)

Bagan Alur Penelitian



I. Analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian dibuat tabel untuk menentukan prosentase kepekaan kuman, apakah resisten ataupun sensitif terhadap antibiotik yang diujikan. Berdasarkan tabel CLSI 2007, Gram negatif dikatakan sensitif terhadap antibiotik apabila diameter zona hambat ≥ 21 mm dan resisten apabila zona hambat ≤ 13 mm.