BAB IV

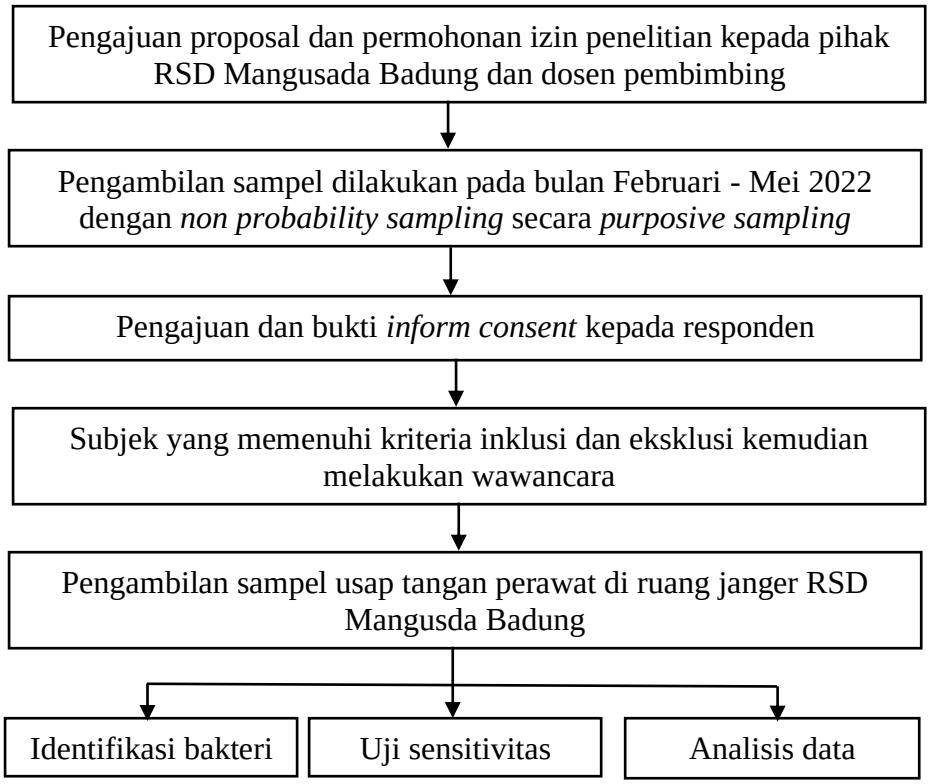
METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada yaitu penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif dilakukan terhadap sekumpulan objek yang biasanya bertujuan untuk mengetahui gambaran fenomena yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Notoatmodjo, 2012). Pada penelitian ini digunakan untuk mengetahui identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik amoxicillin pada usap tangan perawat di ruang janger RSD Mangusada Badung.

B. Alur Penelitian

Alur penelitian yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu :



Gambar 1. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat pengambilan sampel usap tangan dilakukan di ruang janger RSD Mangusada Badung dan tahap pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Poltekkes Kemenkes Denpasar Jalan Sanitasi No. 1 Desa Sidakarya Kecamatan Denpasar Selatan.

2. Waktu penelitian

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan sampel pada pemeriksaan ini dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2022.

D. Unit Analisis dan Responden

1. Jumlah dan besar sampel

Pada penelitian ini yang menjadi sampel ialah perawat di ruang Janger RSD Mangusada Badung. Berdasarkan data yang diperoleh dari RSD Mangusada Badung, jumlah perawat di ruang Janger sebanyak 41 orang.

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi merupakan kriteria atau ciri-ciri yang dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil menjadi sampel (Notoatmodjo, 2012). Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu:

1) Perawat yang bersedia sebagai responden.
2) Perawat yang sehat jasmani.
3) Perawat yang hadir pada saat pengambilan sampel usap tangan.
4) Perawat yang tidak melakukan cuci tangan sebelum atau sesudah asuhan keperawatan.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi artinya ciri-ciri anggota populasi yang tidak bisa diambil menjadi sampel (Notoatmodjo, 2012). Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu:

1) Perawat yang tidak bersedia sebagai responden.
2) Perawat yang sensitif atau alergi terhadap pembersihan tangan.
3) Perawat yang mempunyai riwayat baru sembuh dari luka telapak tangan.
4) Perawat yang tidak sedang menjalani terapi antibiotik.
5) Perawat yang sudah cuci tangan sebelum atau sesudah asuhan keperawatan.
6) Perawat yang tidak hadir pada saat pengambilan sampel usap tangan.

2. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel merupakan proses memilih sejumlah elemen secukupnya dari populasi sehingga peneliti dapat menggeneralisasikan sifat atau karakteristik sampel pada elemen populasi (Noor, 2011). Pada penelitian ini teknik pengambilan sampel dilakukan menggunakan cara *non probability sampling* yaitu teknik pengambilan sampel yang tidak memberi peluang atau kesempatan sama bagi setiap unsur atau anggota populasi untuk dipilih menjadi sampel (Sugiyono, 2018). Salah satu teknik dalam *non probability* sampling adalah p*urposive sampling*. *Purposive sampling* adalah teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2018). Pada penelitian ini semua perawat di ruang janger RSD Mangusada yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Menurut (Sugiyono, 2016) data primer adalah sebuah data yang langsung didapatkan dari sumber dan diberi kepada pengumpul data atau peneliti. Data primer yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah wawancara, dan hasil pemeriksaan laboratorium berupa identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik amoxicillin pada sampel usap tangan perawat.

b. Data sekunder

Menurut (Sugiyono, 2018) data sekunder artinya sumber data yang diperoleh dengan cara membaca, mengkaji serta memahami melalui media lain yang bersumber berasal dari literatur, buku-buku serta dokumen perusahaan. Data sekunder yang dikumpulkan pada penelitian ini ialah data informasi dari RSD Mangusada Badung yang diperlukan dalam melengkapi data penelitian, seperti jumlah tenaga kesehatan perawat di ruang Janger RSD Mangusada Badung dan kasus infeksi nosokomial yang pernah terjadi.

2. Teknik pengumpulan data

a. Wawancara

Wawancara dilakukan untuk memberikan penjelasan mengenai tujuan dan manfaat penelitian yang dilakukan, untuk mendapatkan data karakteristik dari responden kemudian responden menandatangani *informed consent* serta melakukan wawancara.

b. Pemeriksaan identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik amoxicillin

Dalam penelitian ini sampel yang dibutuhkan yaitu usap tangan perawat. Melakukan usap tangan menggunakan lidi steril yang sudah dicelupkan ke dalam larutan NaCl 0,9% kemudian gosok seluruh permukaan telapak tangan dan sela-sela jari. Dilakukan pemeriksaan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan gram apusan yang telah diwarnai kemudian diamati dibawah mikroskop untuk menemukan bakteri berbentuk *coccus* gram positif berwarna ungu, pada uji biokimia yaitu: uji katalase koloni yang ditambahkan dengan H_2O_2 akan menunjukkan hasil positif jika terdapat gelembung, sedangkan uji koagulase dilakukan dengan penetesan reagen koagulase/plasma serum pada kaca objek yang telah berisi koloni, hasil positif ditandai dengan munculnya penggumpalan pada reagen koagulase. Dari uji identifikasi di atas *Staphylococcus aureus* akan menunjukkan karakteristik berbentuk *coccus* berwarna violet/ungu, uji katalase dan uji koagulase positif. Setelah teridentifikasi dapat dilakukan pembuatan suspensi koloni 0,5 *McFarland* untuk uji sensitivitas dengan inokulasi pada media MHA dan penempelan cakram antibiotik. Terbentuknya zona bening disekitar cakram antibiotik dinyatakan sebagai sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3. Instrumen penelitian

a. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data pada penelitian ini adalah lembar *informed consent*, lembar wawancara, alat untuk dokumentasi, dan alat tulis.

b. Alat, bahan, dan prosedur kerja

1) Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian adalah kapas lidi steril, tabung reaksi (merk *Pyrex*), neraca analitik (merk *Radwag*), rak tabung reaksi, api bunsen, ose bulat, erlenmeyer (merk *Pyrex*), batang pengaduk, bola hisap, pipet ukur (merk *Pyrex*), mikropipet (merk *Secorex*), mikrotip, jembatan pewarnaan, kaca objek, pipet tetes, gelas beaker (merk *Pyrex*), gelas ukur (merk *Pyrex*), petridish, kaca objek, mikroskop binokuler (merk Olympus), inkubator (merk *Esco Isotherm*), Bio *Safety Cabinet* (merk Biobase), densitometer *McFarland* (merk BioSan), *cool box*, autoklaf, magnetic stirrer.

2) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, *Natrium Chlorida* (NaCl) 0,9%, aquades steril, alkohol 70%,*Crystal Violet*, Lugol, Safranin, media *Manitol Salt Agar* (MSA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), cakram Antibiotik Amoxicillin (Oxoid), standard *McFarland* 0,5%, reagen H_2O_2 (Hidrogen Peroksida), plasma sitrat, indikator tip dan kertas label, oil imersi, aluminium foil.

3) Prosedur kerja

a) Protokol kesehatan penelitian

Dalam melakukan pengambilan sampel pada masa pandemi covid-19 taat mematuhi protokol kesehatan dengan menggunakan alat pelindung diri (APD) tingkat dua yaitu tenaga kesehatan, dokter, perawat, dan petugas laboratorium di ruang perawatan pasien, di ruangan melakukan pengambilan sampel non pernafasan, maka APD yang dibutuhkan adalah masker medis, dan sarung tangan sekali pakai (Permenkes RI No. 27, 2017). Sedangkan bagi responden wajib menggunakan APD minimal yaitu masker medis.

b) Prosedur pembuatan media

(1) Pembuatan media NaCl

(a) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan

(b) Siapkan aquadest steril

(c) Pipet NaCl 0,9 % sebanyak 5 mL, kemudian masukkan kedalam tabung reaksi

(d) Tutup tabung reaksi menggunakan parafilm

(e) Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121℃ selama 90 menit

(f) Simpan pada kulkas sampai waktunya digunakan.

(2) Pembuatan media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

(a) Pembuatan media *Mannitol Salt Agar* dilakukan dengan cara media MSA ditimbang sebanyak 17,76 g

(b) Kemudian ditambahkan 160 ml aquadest. Suspensi media di homogenkan dan dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih

(c) Kemudian media disterilkan dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C tekanan 2 ATM selama 15 menit. Media yang sudah steril, disimpan di lemari pendingin untuk digunakan selanjutnya.

(3) Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

(a) Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* dilakukan dengan cara media MHA ditimbang sebanyak 5,7 g

(b) Kemudian ditambahkan 150 ml aquadest. Suspensi media di homogenkan dan dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih

(c) Kemudian media disterilkan dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C tekanan 2 ATM selama 15 menit. Media yang sudah steril, disimpan di lemari pendingin untuk digunakan selanjutnya.

c) Prosedur pengambilan sampel usap tangan

Pengambilan sampel usap tangan berdasarkan prosedur kerja yang dilakukan oleh (Zuhriyah, 2004) dan dimodifikasi oleh penulis. Prosedur kerja yang dilakukan yaitu:

(a) Siapkan alat dan bahan yang digunakan

(b) Mintalah responden menggosok-gosokan kedua telapak tangan

(c) Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam larutan NaCl 0,9%

(d) Melakukan usap tangan menggunakan kapas lidi steril tersebut ke seluruh permukaan telapak tangan dan sela-sela jari

(e) Masukan lidi steril tersebut ke dalam larutan NaCl 0,9%

(f) Masukkan ke dalam *coolbox* larutan NaCl 0,9%

(g) Kirim ke tempat pemeriksaan laboratorium

(h) Segera dilakukan inokulasi ke dalam media pertumbuhan.

(i) Prosedur pemeriksaan laboratorium

d) Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

(1) Penanaman (inokulasi) pada media MSA

(a) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

(b) Ambil spesimen usap tangan, dimasukkan kedalam media MSA kemudian dilakukan strike pada kuadran I, dan dilanjutkan strike sampai pada kuadran IV dengan ose bulat secara aseptis

(c) Ditutup kembali media MSA dan diberi label

(d) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

(e) Koloni yang tumbuh pada media pertumbuhan diamati bentuk (bulat bergerombol), dan warna (perubahan media dari merah menjadi kuning keemasan).

(f) Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada MSA akan menunjukkan perubahan warna media dari merah menjadi kuning yang disebabkan adanya produksi asam sebagai hasil fermentasi manitol (Maulitasari, 2014) sehingga mengubah indikator pH pada MSA.

(2) Pewarnaan gram

(a) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan

(b) Kaca objek dibersihkan dengan tisu untuk menghilangkan lemak yang ada

(c) Kaca objek diberi label dan difiksasi di atas bunsen

(d) Ambilah NaCl menggunakan ose dan diteteskan di atas kaca objek secukupnya

(e) Ambil biakan koloni yang tumbuh pada media MSA kemudian dibuatkan apusan pada objek hingga merata

(f) Fiksasi pada api bunsen

(g) Lakukanlah pewarnaan menggunakan warna *crystal violet* dan didiamkan selama 1 menit, lalu bilas menggunakan air mengalir

(h) Lakukan pewarnaan dengan larutan *lugol* dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian bilas dengan air mengalir

(i) Lakukan pembersihan zat pengganggu menggunakan alkohol 70% setetes demi setetes hingga aliran alkohol yang menetes hampir jernih. Kemudian bilas preparat dengan air mengalir

(j) Lakukan pewarnaan dengan larutan safranin dan didiamkan selama 45 detik kemudian dibilas menggunakan air mengalir dan keringkan

(k) Preparat yang sudah jadi diamati dengan mikroskop pada perbesaran lensa objektif 100x dengan penambahan oil imersi.

(l) Bakteri gram positif yang memiliki peptidoglikan tebal akan mengikat kuat *crystal violet* sehingga berwarna ungu. Sedangkan bakteri gram negatif akan menyerap safranin sehingga berwarna merah (Putri Hiaranya, Sukini, dan Yodong, 2017).

(3) Uji katalase

(a) Koloni biakan bakteri yang tumbuh pada media MSA disiapkan

(b) Teteskan H_2O_2 pada kaca objek

(c) Diambil 1 koloni bakteri dari media MSA secara aseptis, kemudian dicampurkan dengan H_2O_2 pada kaca objek

(d) Diamati ada tidaknya gumpalan atau bekuan pada reaksi tersebut

(e) Interpretasi hasil: uji katalase positif yaitu buih (busa). Uji katalase negatif yaitu tidak terbentuk buih (busa).

(f) Koloni yang menunjukkan katalase positif dilanjutkan dengan uji koagulase (Kurniawan, 2017).

(4) Uji Koagulase

(a) Koloni biakan bakteri yang tumbuh pada media MSA disiapkan

(b) Teteskan plasma sitrat ke permukaan kaca objek

(c) Koloni yang sebelumnya menunjukkan katalase positif diambil 1 koloni bakteri dari media MSA sebanyak 1-2 ose, dicampur merata dengan plasma sitrat

(d) Diamati ada tidaknya gumpalan atau bekuan pada reaksi tersebut

(e) Interpretasi hasil: uji koagulase positif yaitu terjadi penggumpalan pada reagen uji koagulase. Uji koagulase negatif yaitu tidak terjadi penggumpalan pada reagen uji koagulase (Kurniawan, 2017).

Koloni yang telah teridentifikasi positif *Staphylococcus aureus* melalui uji mikroskopis dan uji biokimia (uji katalase dan koagulase) kemudian diinokulasikan pada media MHA metode aseptis. Selanjutnya dilakukan uji sensitivitas terhadap antibiotik amoxicillin dengan metode difusi cakram dan dibandingkan dengan standar CLSI (Dewi, 2013).

(5) Peremajaan media MHA

(a) Disiapkan alat dan bahan yang diperlukan

(b) Dibakar ujung ose bulat pada api bunsen hingga berwarna kemerahan

(c) Diambil koloni dari media MSA yang mengubah warna media menjadi kuning

(d) Diinokulasikan koloni dari media MSA ke media MHA dengan strike IV kuadran secara aseptis

(e) Ditutup kembali media MHA

(f) Diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam

(6) Pembuatan suspensi 0,5 *McFarland*

(a) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

(b) Siapkan alat dan bahan yang digunakan

(c) Tabung reaksi diisi dengan 5 ml NaCl 0,9%

(d) Diambil koloni tunggal pada media MHA dan dilarutkan dalam tabung

(e) Dibaca dengan densitometer *McFarland* hingga nilai 0,5 *McFarland*.

(7) Uji sensitivitas antibiotik amoxicillin

(a) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

(b) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

(c) Suspensi 0,5 *McFarland* diinokulasikan pada media MHA dengan membuat apusan secara merata menggunakan lidi kapas

(d) Ditempelkan cakram antibiotik amoxicillin pada permukaan media yang telah diinokulasikan dengan suspensi kuman

(e) Diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam

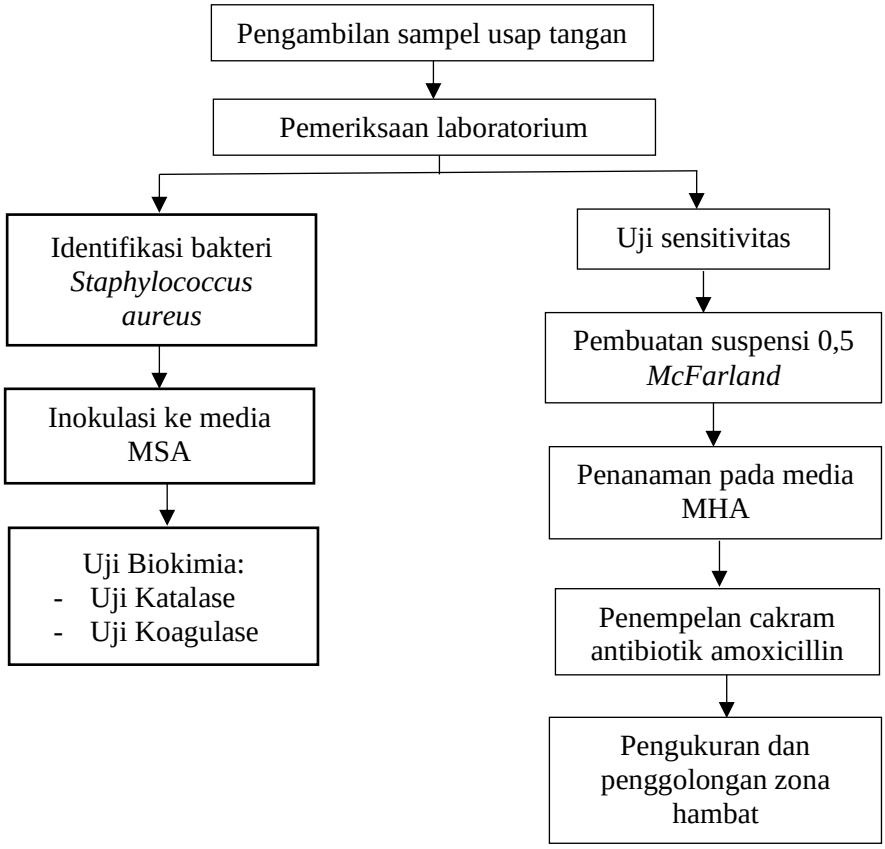
(8) Pengukuran diameter zona hambat

(a) Diambil media MHA yang telah diinkubasi selama 24 jam

(b) Diamati adanya zona hambat disekeliling cakram antibiotik

(c) Diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris

(d) Diameter zona hambat dikategorikan sensitif (S) apabila diameternya ≥ 20 mm, dan resisten (R) apabila diameternya ≤ 19 mm (CLSI, 2012).



Gambar 5. Skema Kerja

A. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang telah diperoleh dari hasil wawancara, identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dikelompokkan, diolah, dan data disajikan dalam bentuk tabel kemudian dibahas secara naratif.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu tidak dibahas secara uji statistik, tetapi dengan cara membandingkan kenyataan di lapangan yaitu hasil pemeriksaan dibandingkan dengan standar sensitivitas amoxicillin pada tabel *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) antara lain resisten (R) dan sensitif (S). Jumlah dari masing-masing hasil tersebut dinyatakan dalam bentuk persentase (%).

F. Etika Penelitian

1. Prosedur pengajuan kajian etik penelitian kesehatan

Peneliti dapat mengajukan permohonan kaji etik kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Denpasar dengan langkah sebagai berikut:

a. Mengisi formulir registrasi pengajuan dan isian kelayakan kaji etik penelitian kesehatan dengan mengunduh formulirnya.
b. Membuat ringkasan protokol atau proposal sesuai dengan ketentuan yang berlaku. Ketentuan dapat diunduh.
c. Proposal atau protokol penelitian harus sudah mendapat persetujuan dari reviewer dosen pembimbing mahasiswa.
d. Formulir pengajuan kaji etik, isian kelayakan kaji etik, ringkasan protokol atau proposal dan protokol atau proposal penelitian (masing-masing rangkap 3) dibawa langsung ke sekretariat Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Denpasar, Jl. Sanitasi No. 1 Sidakarya Denpasar Selatan, lantai 2.
e. Proposal penelitian harus dilengkapi curriculum vitae peneliti utama (principal investigator) dan peneliti pendamping (*co-investigator*), lembaran persetujuan

setelah penjelasan (PSP) (*informed consent*) yang terdiri dari: 1) informasi untuk subjek penelitian, 2) lembaran persetujuan subjek (lembar tanda tangan). Lembar PSP dapat diunduh.

2. Kode etik penelitian

a. Menghormati individu (*respect for persons)*

Penelitian perlu mempertimbangkan hak-hak subjek peneliti tersebut. Peneliti juga memberikan kebebasan kepada subjek dalam menyampaikan informasi atau tidak menyampaikan informasi. Sebagai ungkapan, peneliti menghormati harkat dan martabat subjek penelitian seperti format formulir persetujuan subjek atau *informed consent*.

b. Kebaikan/kemanfaatan (*beneficence*)

Beneficence merupakan melakukan sesuatu yang baik. Memerlukan pencegahan dari kesalahan atau kejahatan, penghapusan kesalahan atau kejahatan dan peningkatan kebaikan oleh diri dan orang lain (Purnama, 2016).Kewajiban secara etik untuk memaksimalkan manfaat dan meminimalkan kerugian yang dialami subjek yang diteliti. Semua penelitian harus bermanfaat bagi masyarakat, desain penelitian harus jelas, peneliti yang bertanggung jawab harus mempunyai kompetensi yang sesuai.Pada penelitian ini menggunakan APD tingkat dua untuk mencegah terjadinya infeksi nosokomial.

c. Kerahasiaan (*confidentiality*)

Setiap orang mempunyai hak–hak dasar individu termasuk privasi dan kebebasan individu dalam memberikan informasi. Setiap orang berhak untuk tidak memberikan apa yang diketahuinya kepada orang lain. Oleh sebab itu, peneliti tidak

boleh menampilkan informasi mengenai identitas dan kerahasiaan identitas subjek. Peneliti cukup menggunakan coding sebagai petunjuk identitas responden. Dalam pelaksanaan menghormati privasi dan kerahasiaan subjek penelitian, peneliti menerapkan cara untuk menulis identitas responden dengan urutan abjad dan umur responden, dan peneliti juga tidak mengambil gambar (foto) tanpa persetujuan dari responden.

d. Keadilan (*justice*)

Prinsip keterbukaan dan adil perlu dijaga oleh peneliti dengan kejujuran, keterbukaan, dan kehati-hatian. Lingkungan peneliti perlu dikondisikan memenuhi prinsip keterbukaan, yakni dengan menjelaskan prosedur penelitian. Prinsip keadilan ini menjamin bahwa semua subjek penelitian memperoleh perlakuan dan keuntungan yang sama, tanpa membedakan jenis kelamin, agama, suku, dan lainnya. Dalam penerapan keadilan dan inklusivitas atau keterbukaan responden, sebelum melakukan penelitian dengan memberikan wawancara peneliti menjelaskan kepada responden tentang manfaat dari penelitian ini.