BAB IV

METODELOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif yaitu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan suatu fenomena yang terjadi dalam masyarakat (Notoatmodjo, 2012).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas II Denpasar Selatan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar Jalan Sanitasi No. 1 Desa Sidakarya Kecamatan Denpasar Selatan.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai bulan Juni 2018

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh Pekerja Seks Komersial yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas Denpasar Selatan dengan total 66 pasien.

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian dan unit analisis pada penelitian ini adalah isolat *Neisseria gonorrhoeae* dari swab vagina Pekerja Seks Komersial di wilayah Puskesmas II

Denpasar Selatan. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *Purposive Sampling* yang memenuhi kriteria sampel pada Pekerja Seks Komersial yang melakukan pemeriksaan infeksi menular seksual di Puskesmas II Denpasar Selatan.

a. Kriteria sampel

Penentuan sampel dilakukan dengan kriteria sebagai berikut:

1) Bersedia untuk diikutkan dalam penelitian dengan menandatangani *informed concent*
2) Pekerja seks komersial tidak sedang mengalami menstruasi
3) Pekerja seks komersial tidak sedang hamil
4) Tidak sedang menjalani terapi antibiotik

b. Besar sampel

Penentuan estimasi besar sampel penelitian ini menggunakan jumlah populasi pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas II Denpasar Selatan tahun 2017, yaitu sebanyak 66 pasien. Sehubungan dengan jumlah populasi pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas II Denpasar Selatan pada tahun 2018 belum diketahui, maka dapat dilakukan penentuan estimasi ukuran sampel penelitian menggunakan tabel Isaac dan Michael dalam Sugiyono (2012). Maka estimasi besar sampel dengan mempertimbangkan taraf kesalahan 5% didapatkan hasil sebesar 55 pekerja seks komersial yang digunakan sebagai sampel.

Sampel ini termasuk dalam jumlah besar. Menurut Roscoe dalam Sugiyono (2012), ukuran sampel yang layak dalam penelitian adalah antara 30 sampai dengan 500 sampel. Sehingga karena keterbatasan waktu, biaya, dan tenaga maka, sampel

dalam penelitian ini diambil sebesar 30 sampel dari populasi pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas II Denpasar.

c. Teknik pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *non probability sampling* secara *purposive sampling*. Menurut Notoatmodjo (2012), pengambilan sampel secara *purposive sampling* ini dilakukan dengan pertimbangan peneliti sendiri, berdasarkan ciri-ciri atau sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer yang akan dikumpulkan dalam penelitian ini adalah:

1. Karakteristik Pekerja Seks Komersial (PSK) meliputi: umur, tingkat pendidikan, jumlah pelanggan dan lamanya menjadi Pekerja Seks Komersial (PSK).
2. Hasil pemeriksaan laboratorium sampel swab vagina Pekerja Seks Komersial (PSK).

2. Cara pengumpulan data

a. Wawancara

Wawancara dilakukan dengan memberikan pertanyaan langsung mengenai identitas responden

b. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data mengenai identifikasi dan sensitivitas *Neisseria gonorrhoeae* terhadap Sefiksim dilakukan dengan pemeriksaan laboratorium melalui teknik kultur

dan mengukur zona hambat berdasarkan metode difusi cara *Kirby-Bauer* dinyatakan dalam satuan millimeter (mm) dan dibandingkan pada tabel *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) untuk diklasisfikasikan dalam tiga kategoti yaitu resisten (R) dan sensitif (S).

3. Instrument pengumpulan data

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data yaitu:

a. *Informed consent*

b. Formulir wawancara

c. Kamera untuk dokumentasi

d. Alat tulis

e. Alat untuk pemeriksaan laboratorium

E. Alat, Bahan, dan Prosedur

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: neraca analitik (Radwag) (1 buah), autoclave (SX-500, Tomy) (1 buah), inkubator (T01892, Esco) (1 buah), *Bio Safety Cabinet* (Biobase) (1 buah), mikroskop (olympus), api bunsen, gelas beaker (Iwaki-Pyrex), Erlenmeyer (Iwaki-Pyrex), tabung reaksi (Iwaki-Pyrex), rak tabung reaksi, petridish, *coolbox*, ose bulat disposable, objek glass, lidi kapas (*cotton swab*), rak pencucian, spektrofotometer *McFarland* (BioSan) dan pinset.

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adala: media Stuart (Oxoid), media GC agar (Oxoid), cakram Antibiotik Sefiksim (Oxoid), darah kambing, NaCl

0.9%, standar *McFarland*, minyak emersi, pewarna Gram, akuadest, kertas label, alumunium foil, kapas berlemak, tissue, larutan hidrogen peroksida dan alkohol 70%.

3. Prosedur kerja

a. Pengambilan swab vagina

1) Jangan menggunakan pelumas dan analgesik

2) Membersihkan vulva dengan akuadest atau NaCl fisiologis steril

3) Memasang speculum dengan hati-hati

4) Membersihkan secret vagina yang berlebihan

5) Melakukan usapan vagina pada forniks posterior atau endoserviks dengan menggunakan *cotton swab*

6) Usapan diambil sebanyak 2 kali

7) Dipindahkan pada media Stuart

8) Dikirim segera ke laboratorium maksimal dalam 24 jam pada suhu kamar

b. Inokulasi pada Media Thayer Martin

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

3) Cotton swab pada media Stuart diinokulasikan pada media Thayer Martin dengan metode gores kuadran

4) Diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan kadar CO_2 5%

c. Pembuatan hapusan

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

3) Dihidupakan api bunsen

4) Kaca objek dibersihkan dengan tisu dan difiksasi diatas api Bunsen

5) Diteteskan secukupnya NaCl 0.9% pada kaca objek

6) Dibakar ose hingga merah menyala

7) Diambil koloni tunggal pada media coklat agar

8) Dibuat hapusan dengan mencampurkan dengan NaCl yang sudah diteteskan pada kaca objek

9) Difiksasi kembali pada api bunsen hingga hapusan kering

d. Pewarnaan gram

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

3) Hapusan diletakkan pada rak pencucian dengan apusan menghadap keatas

4) Digenangi apusan dengan pewarna 1 (Kristal violet) selama 1 menit

5) Digenangi apusan dengan pewarna 2 (Lugol) selama 1 menit

6) Digenangi apusan dengan pewarna 3 (Alkohol 96%) selama 30 detik

7) Digenangi apusan dengan pewarna 4 (Safranin) selama 45 detik

8) Dibilas dengan mengalirkan air pada hapusan dan diangin-anginkan hingga kering

9) Dibaca dibawah mikroskop

e. Uji katalase

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

3) Diteteskan kaca objek dengan larutan H_2O_2

4) Diambil koloni tunggal dengan menggunakan ose

5) Dicapurkan koloni pada ose dengan larutan H_2O_2

f. Uji oksidase

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

3) Diambil koloni tunggal dengan menggunakan lidi kapas

4) Diteteskan reagen oksidase pada lidi kapas

Koloni yang telah teridentifikasi positif *Neisseria gonorrhoeae* melalui uji identifikasi (Pewarnaan gram, uji katalase, dan uji oksidase) diinokulasikan pada media GC agar dengan metode aseptis. Selanjutnya dilakukan uji sensitivitas terhadap antibiotik dengan sefiksim dengan metode difusi cakram dan dibandingkan dengan standar CLSI.

g. Pembuatan suspensi 0,5 *McFarland*

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disipakan alat dan bahan yang digunakan

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

4) Diambil koloni tunggal pada media coklat agar dan dilarutkan dalam tabung

5) Dibaca dengan spektrofotometer *McFarland* hingga nilai 0.5 *McFarland*

h. Uji sensitivitas antibiotik sefiksim

1) Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap

2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan

3) Suspensi 0,5 *McFarland* diinokulasikan pada media MHA dengan membuat hapusan secara merata menggunakan lidi kapas

4) Ditempelkan cakram antibiotik sefiksim pada permukaan media yang telah diinokulasikan dengan suspensi kuman

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

i. Pengukuran diameter zona hambat

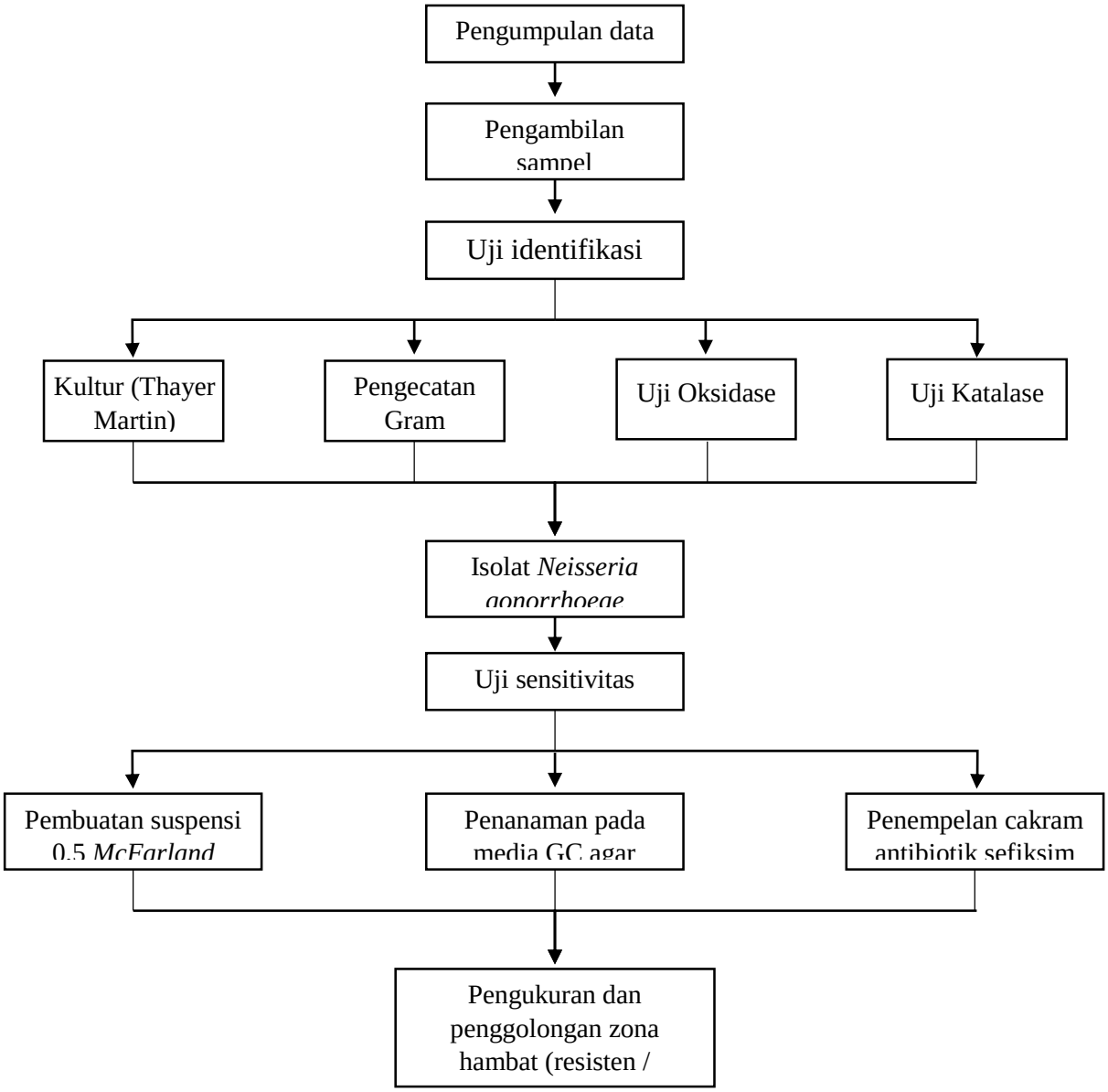
1) Diambil media GC Agar Base yang telah diinkubasi selama 24 jam

2) Diamati adanya zona hambat disekeliling cakram antibiotik

3) Diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris

4) Nilai zona hambat dibandingkan dengan standar CLSI

5) Nilai zona hambat dikelompokkan ke dalam kategori CLSI



Gambar 4. Skema kerja

F. Pengolahan dan Teknik Analisis Data

1. Pengolahan data

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian, wawancara, dan observasi diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulasi data yaitu (data disajikan dalam tabel) dengan diberikan narasi.

2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif, yaitu dengan membandingakan kenyataan di lapangan atau hasil pemeriksaan dibandingkan dengan standar sensitivitas sefiksim pada tabel *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) antara lain resisten (R) dan sensitive (S). Jumlah dari masing-mading hasil tersebut dinyatakan dalam bentuk persentase (%).