

## **BAB IV METODE PENELITIAN**

### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dimana sekumpulan objek dianalisis di laboratorium untuk mengetahui gambaran fenomena yang terjadi di dalam populasi tertentu (Notoatmodjo, 2012).

### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **1. Tempat Penelitian**

- a. Lokasi pengambilan sampel untuk penelitian ini dilakukan di ruang rawat inap kelas III meliputi sal Cendrawasih dan Dara Rumah Sakit Umum Daerah Wangaya.
- b. Pemeriksaan sampel untuk penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

#### **2. Waktu Penelitian**

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan sampel untuk penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juni 2018.

### **C. Sampel Penelitian**

#### **1. Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah semua jenis *Aspergillus sp.* yang ditemukan pada ruang rawat inap kelas III di RSUD Wangaya.

#### **2. Besar Sampel Penelitian**

Besar sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 21 sampel udara ruangan rawat inap kelas III RSUD Wangaya yang terdiri dari dua jenis ruangan dan tiap

ruangan dibagi menjadi beberapa ruangan dengan jumlah berbeda. Adapun jenis-jenis ruangan tersebut adalah ruangan Cendrawasih terdiri dari 6 ruangan, ruangan Dara terdiri dari 1 ruangan. Sehingga jumlahnya 7 ruangan dan tiap ruangan sebanyak 3 sampel udara.

### **3. Kriteria Sampel**

Kriteria sampel pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah jamur yang terpapar di udara ruang rawat inap kelas III dan jamur *Aspergillus sp.*
- 2) Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah jamur selain *Aspergillus sp.*

### **4. Teknik Sampling**

Dalam penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan dengan cara *non probability* dengan cara *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel dilakukan sesuai dengan keinginan peneliti dikarenakan pada ruang rawat inap kelas III lebih padat kapasitasnya dan pengunjung lebih banyak (Notoatmodjo, 2012), untuk menentukan ruangan yang akan diteliti dipilih dengan metode *sampling jenuh* yaitu semua ruangan digunakan sebagai sampel dikarenakan jumlah populasi sampel relatif kecil serta ingin membuat generalisasi dengan kesalahan yang kecil. Sampling dilakukan pada 7 ruangan sebanyak 3 titik pengambilan sampel sehingga jumlahnya menjadi 21 sampel (Sugiyono, 2014).

## **D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis Data Yang Dikumpulkan**

#### a. Data primer

Data primer yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah hasil identifikasi dan sensitivitas jamur *Aspergillus sp.* pada ruang rawat inap kelas III Rumah Sakit Umum Daerah Wangaya.

#### b. Data sekunder

Data sekunder yang dikumpulkan pada penelitian ini berupa data informasi dari Rumah Sakit Umum Daerah Wangaya yang diperlukan dalam melengkapi data penelitian, seperti jumlah dan jenis ruang rawat inap kelas III serta kasus infeksi nosokomial.

### **2. Teknik Pengumpulan Data**

Teknik pengumpulan data yang digunakan adalah dengan cara melakukan pengambilan sampel udara kemudian diperiksa di laboratorium untuk mengidentifikasi jamur *Aspergillus sp.* dan mengukur diameter zona hambat berdasarkan metode difusi cakram Kirby-Bauer dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

### **3. Instrumen Pengumpulan Data**

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data pada penelitian ini adalah:

- 1) Alat tulis, untuk mencatat hasil pemeriksaan
- 2) Kamera, untuk mendokumentasikan kegiatan penelitian.
- 3) Alat dan bahan untuk pengambilan sampel udara dan pemeriksaan laboratorium.

## **E. Alat, Bahan dan Prosedur Kerja**

### **1. Alat**

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : neraca analitik merek Radwag (1buah), *Bio Safety Cabinet* merek Biobase (1 buah), *Autoclave* merek TOMY ES-215 (1 buah), dengan spesifikasi: *range* suhu sterilisasi 105 – 123<sup>0</sup>C, *range* tekanan 0 - 127 kPa/max 147 kPa, sumber panas 1.5 kW, kapasitas *chamber* 248 x 543mm/25 ℓ, berat 50 kg, dimensi unit utama 400/460/920 mm), gelas beaker merek Pyrex volume 500 ml (1 buah), batang pengaduk (1 buah), erlenmeyer 500 ml merek Pyrex (2 buah), gelas ukur merek Pyrex volume 250 ml (2 buah), batang pengaduk (1 buah), mikropipet ukuran 500µl merek Socorex (1 buah), *yellow tip*, petridish (60 buah), api bunsen (1 buah), ose bulat (1 buah), objek gelas (1 kotak), cover glass (1 kotak), pipet tetes (1 buah), hot plate stirer merek GISICO (1 buah), Mikroskop binokuler merek Olympus, pinset (1 buah), McFarland Densitometer merek Biosan (1 buah), tabung reaksi merek Pyrex volume 10 ml (30 buah), rak tabung (3 buah), tabung reaksi merek Pyrex volume 15 ml (3 buah), Lux meter merek TAKEMURA ELECTRIC WORKS LTD (1 buah), Hygrometer merek HANNA HI 9565 (1 buah).

### **2. Bahan**

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : media *Saboraud Dextrose Agar* (Oxoid), aquadest, kloramfenicol, larutan NaCl 0,9% (Merk), alkohol 70%, kertas label, aluminium foil, kapas berlemak, kertas buram, tissue, larutan warna *Lactophenol Cotton Blue* 5%, media *Mueller Hinton Agar* (Oxoid), Glukosa (BD), methylen blue (Merck KGaA), antijamur vorikonazol 25 µg (Oxoid).

### 3. Prosedur Kerja

a. Prosedur pengambilan pengukuran intensitas cahaya, kelembaban dan suhu

1) Pengukuran intensitas cahaya

a) Dibuka tutup pengukur intensitas cahaya

b) Ditekan tombol ON

c) Kemudian dipegang alat pengukurnya dan didiamkan sampai jarum pada lux meter stabil. Jika jarum menunjukkan sampai maksimal atau melebihi 1000, ditekan tombol high.

2) Pengukuran kelembaban dan suhu

a) Ditekan tombol ON

b) Kemudian dipegang alat pengukurnya di amkan sampai angka kelembabannya stabil.

c) Untuk pengukuran suhu ditekan tombol range agar berubah pada pengaturan pengukuran suhu

b. Prosedur pengambilan sampel udara (pembuatan biakan jamur udara)

1) Diletakkan petridish yang berisi media *Saboraoud Dextrose Agar* didalam ruangan yang sudah dimaksud sebanyak 3 cawan petri (3 titik) untuk tiap ruangan.

2) Dibuka tutup petridish media.

3) Didiamkan dalam keadaan terbuka selama 15 menit.

4) Media *Saboraoud Dextrose Agar* ditutup kembali dan dibungkus dengan kertas buram.

5) Diinkubasi pada suhu ruang selama 3-5 hari.

6) Diamati makroskopis dan mikroskopis jamur yang tumbuh (Fitria *et al.*, 2008).

c. Kultur jamur dari sampel (subkultur)

1) Subkultur dilakukan dengan penumbuhan dan pemeliharaan konidia jamur *Aspergillus sp.* pada media *Saboroud Dextrose Agar* steril.

2) Konidia jamur *Aspergillus sp.* diambil dengan menggosokkan ujung ose steril/pinset pada induknya.

3) Ujung ose/pinset dengan konidia jamur tersebut kemudian digosokkan ke permukaan media untuk subkultur

4) Penumbuhan dan pemeliharaan subkultur dilakukan dengan inkubasi pada suhu kamar selama 3 – 5 hari dan diamati pertumbuhannya (P. Badiiee, Al. Alborzi, M. Moeini, *et al.*, 2012).

d. Pemeriksaan di Laboratorium

1) Pembuatan dan Pengamatan sediaan jamur

a) Disiapkan kaca objek yang bersih kemudian diberi satu tetes larutan *lactophenol cotton blue*.

b) Ose dipanaskan lalu didinginkan kemudian koloni jamur diambil sedikit dan diletakkan pada kaca objek yang telah berisi *lactophenol cotton blue*.

c) Buat suspensi jamur (diaduk/homogenkan) sampai koloni hancur kemudian ditutup dengan kaca tutup (cover glass).

d) Ose yang telah dipakai untuk mengambil jamur dibakar di atas api bunsen.

e) Sediaan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 (untuk mencari lokasi koloni jamur) setelah didapat kemudian diperiksa dengan

pembesaran 10 x 40 untuk mengidentifikasi sporulasi yang terbentuk (Nurjannah, 2016).

f) Diidentifikasi jamur *Aspergillus sp.* yang terlihat di mikroskop.

## 2) Pembuatan Suspensi Jamur

a) Dipipet 5 ml larutan NaCl 0,9% ke dalam tabung reaksi.

b) Konidia jamur diambil dengan ujung ose yang sebelumnya telah dipanaskan di api bunsen

c) Kemudian diencerkan dengan hingga didapatkan kekeruhan yang sebanding dengan standard 0,5 Mc.Farland (diukur dengan alat densitometer) (Ranjani *et al.*, 2014).

## 3) Pelaksanaan Uji Sensitivitas

a) Diinokulasikan 1 ml (1000  $\mu$ l) suspensi jamur dan ditambahkan media MHA + 2 % Glukosa + 0.5  $\mu$ g/mL metilen blue ke dalam petridish dengan metode pour plate dibiarkan sampai padat.

b) Diletakkan cakram disk vorikonazol pada media MHA + 2 % Glukosa + 0.5  $\mu$ g/mL metilen blue yang telah disebarkan suspensi jamur kemudian sedikit ditekan hingga menempel sempurna menggunakan pinset.

c) Jarak cakram disk dari tepi media diatur, agar tidak terjadi overlapping zona hambat yang terbentuk.

d) Dikerjakan duplo.

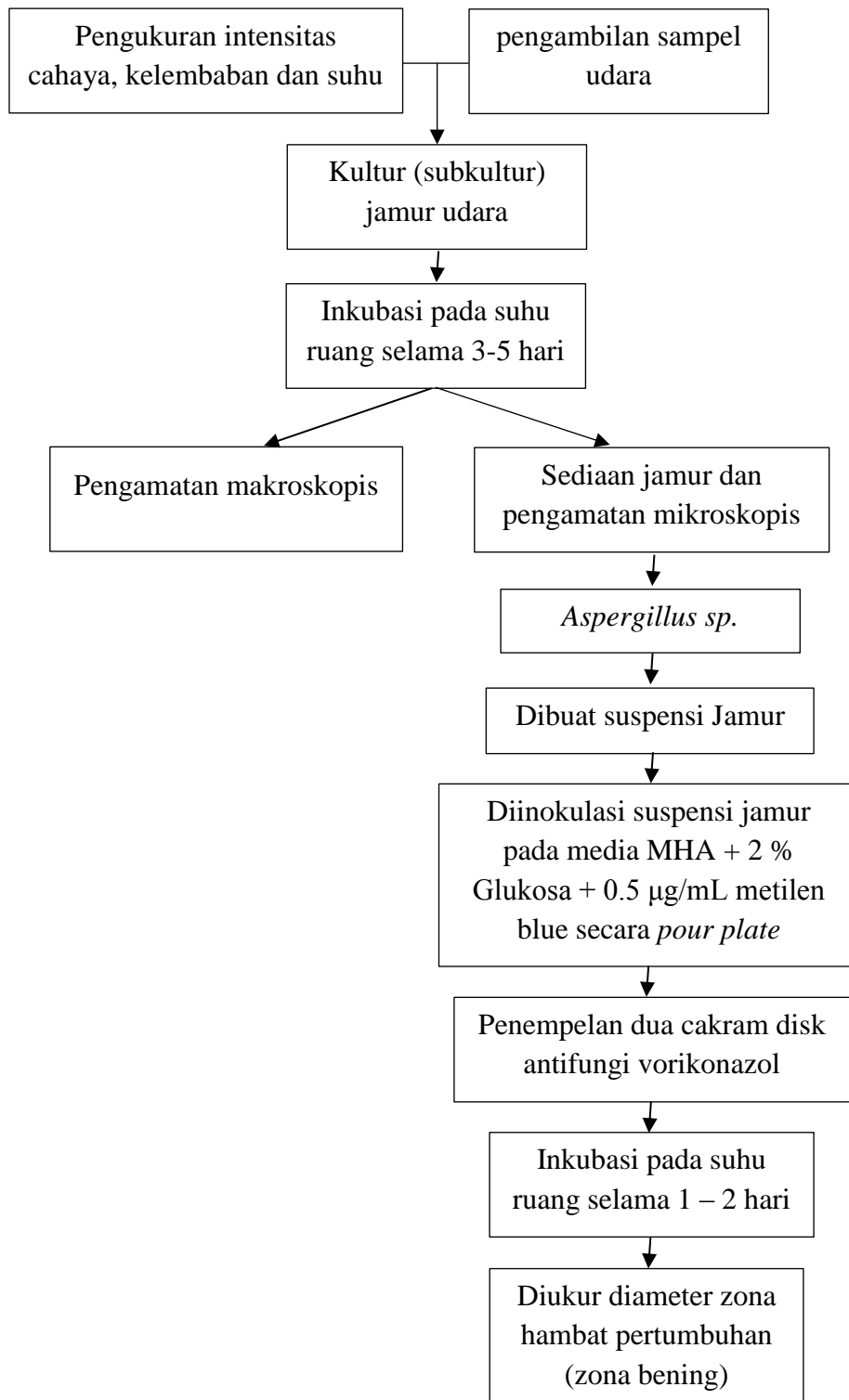
e) Diinkubasi media pada suhu ruang selama 1 – 2 hari (Isworo dan Hartini, 2017).

## 4) Pelaporan Hasil

a) Amati zona keruh dan jernih di setiap petri. Amati, gambar pertumbuhannya

- b) Diukur diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong/mistar dan dinyatakan dalam satuan mm.
- c) Diukur dari ujung satu ke ujung lain melalui tengah-tengah cakram disk (Isworo dan Hartini, 2017).





Gambar 19. Skema kerja

## **F. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik Pengolahan Data**

Data yang diperoleh dari identifikasi jamur *Aspergillus sp.* dan uji sensitivitas terhadap vorikonazol diolah dan disajikan dalam bentuk tabel kemudian dibahas secara naratif (Notoatmodjo, 2012).

### **2. Analisis Data**

Data dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dengan mendeskripsikan hasil identifikasi jamur *Aspergillus sp* yang diperoleh, serta dimana data numerik hasil sensitivitas yang diperoleh terlebih dahulu dirata-ratakan (mean). Jumlah masing-masing hasil tersebut dinyatakan dalam bentuk presentase (%) (Notoatmodjo, 2012).