**BAB IV**

**METODE PENELITIAN**

1. **Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif yaitu penelitian yang dilakukan dengan cara menggambarkan suatu fenomena yang terjadi dalam masyarakat. (Notoatmodjo, 2012). Penelitian ini digunakan untuk mengidentifikasi dan mengetahui sesnsitivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* terhadap antibiotik *ciprofloxacin* yang diisolasi dari sampel sputum penderita infeksi saluran pernafsan akut di RSUD Wangaya.

1. **Tempat dan Waktu Penelitian**
   * 1. **Tempat penelitian**

Sampel dalam penelitian ini diambil di RSUD Wangaya Denpasar. Pemeriksaan sampel penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

1. **Waktu penelitian**

Waktu penelitian dan pengambilan data dilakukan pada bulan April sampai dengan Juni 2018

1. **Populasi dan Sampel Penelitian**
   * + 1. **Populasi penelitian**

Populasi dalam penelitian adalah penderita ISPA yang melakukan pemeriksaan sputum di RSUD Wangaya Denpasar pada bulan April hingga Juni 2018.

* 1. **Sampel penelitian**
  2. Unit analisis dan responden

Unit analisis pada penelitian adalah ada atau tidaknya bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada sputum penderita infeksi saluran pernafasan akut. Responden dalam penelitian ini adalah penderita ISPA yang melakukan pemeriksaan sputum di RSUD Wangaya. Ketentuan sampel dalam penelitian adalah yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

Penderita ISPA di RSUD Wangaya.

Mengalami gangguan pernafasan lebih dari 2 minggu.

Sampel sputum sewaktu.

Sampel purulen.

* 1. Jumlah dan besar sampel

Menurut (Sugiyono, 2017) apabila jumlah populasi kurang dari 100 maka jumlah sampel diambil dari semua populasi yang ada sehingga penelitian tersebut merupakan penelitian populasi. Ukuran sampel yang layak dalam penelitian adalah antara 30 sampai dengan 500 sampel. Oleh karena keterbatasan waktu, biaya, dan tenaga maka, sampel dalam penelitian ini diambil sebesar 30 sampel dari populasi penderita ISPA yang melakukan pemeriksaan sputum di RSUD Wangaya Denpasar.

* 1. Teknik sampling

Dalam penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *non probability sampling* secara *purposive sampling*, (Notoatmodjo, 2012).

1. **Jenis, Teknik, Prosedur Kerja dan Instrumen Pengumpulan Data**
   * + 1. **Jenis data yang dikumpulkan**
2. Data primer

Data primer dikumpulkan dengan cara pemeriksaan laboratorium. Data primer dalam penelitian ini adalah data identifikasi keberadaan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan sensitivitas bakteri *klebsiella pneumoniae* terhadap *ciprofloxacin* pada sampel sputum penderita infeksi saluran pernafsan akut di RSUD Wangaya Denpasar.

1. Data sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh dengan mengutip data dari RSUD Wangaya tentang karakteristik usia, jenis kelamin dan hasil pemeriksaan BTA terhadap penderita ISPA yang melakukan pemeriksaan sputum di RSUD Wangaya Denpasar.

* + - 1. **Teknik/Cara pengumpulan data**

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

* + - 1. **Instrumen pengumpulan data**

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data responden dalam penelitian ini adalah :

1. Alat tulis, untuk mencatat hasil pengambilan data
2. Kamera untuk melakukan dokumentasi kegiatan penelitian
3. Alat dan Bahan,

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

* + - 1. Alat

Wadah sampel sputum steril (30 buah), Neraca analitik (1 buah), Erlenmeyer 250 ml (3 buah), spatula (1 buah), gelas ukur 500 ml (1 buah), magnetic dan stirrer (1 buah), batang pengaduk (1 buah), autoclave, *petridisk* steril (35 buah), spritus (1 buah), *ball* pipet (2 buah), pipet ukur 20 ml(1 buah), incubator, ose standar volume 1 μl (32 buah), *biosafety cabinet*, *cool box* (1 buah).

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses pengumpulan data antara lain adalah sebagai berikut: media MCA, media SIM, media Glukosa, Sukrosa, Laktosa, Mannitol, Maltosa, media APW, media NA, media TSIA, media MHA, cakram antibiotik ciprofloxacin, standar MacFarland, akuadest, kertas label, alumunium foil, kapas berlemak, tissue

* + - 1. **Prosedur pemeriksaan**
         1. Inokulasi pada media MCA

Disiapkan media MCA yang akan digunakan untuk kultur sampel. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil sampel pada wadah sampel .Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media MCA. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan pengamatan.

* + - * 1. Inokulasi pada media NA

Disiapkan media NA yang akan digunakan untuk kultur sampel. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media MCA .Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media NA. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan pengamatan.

* + - * 1. Inokulasi pada media TSIA

Disiapkan media TSIA yang akan digunakan untuk uji biokimia. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media NA. Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media TSIA dengan cara menusuk bagian tengah media dan menggores bagian lereng. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan pengamatan.

* + - * 1. Uji *Indole*

Disiapkan media SIM yang akan digunakan untuk uji biokimia. Ose lancip dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media NA. Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media SIM dengan cara menusuk bagian tengah media. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam. Ditambahkan reagen *Kovac* pada media SIM dan diamati perubahan yang terjadi.

* + - * 1. Uji *Methyl Red*

Disiapkan media MR-VP yang akan digunakan untuk uji biokimia. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media NA. Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media MR-VP. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam. Media ditambahkan dengan reagen *Methyl Red* lalu diamati perubahan warna yang terjadi.

* + - * 1. Uji *Voges-proskauer*

Disiapkan media MR-VP yang akan digunakan untuk uji biokimia. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media NA. Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media MR-VP. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam. Media ditambahkan dengan reagen KOH dan *alpha-naphthol* lalu diamati perubahan warna yang terjadi.

* + - * 1. Uji *Citrat*

Disiapkan media *Simon Citrat* yang akan digunakan untuk uji biokimia. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media NA. Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada media *Simon Citrat* dengan cara menggores pada bagian lereng. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan pengamatan.

* + - * 1. Uji fermentasi gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Mannitol dan Maltosa)

Disiapkan media gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Mannitol dan Maltosa) yang akan digunakan untuk uji biokimia. Ose dibakar hingga berwarna merah kemudian digunakan untuk mengambil koloni target pada media NA. Diambil sampel dengan menggunakan ose. Inokulasikan ose tersebut pada setiap media gula-gula. Kemudian media dinkubasi selama 24 jam sebelum dilakukan pengamatan.

* + - * 1. Pembuatan suspense 0,5 MacFarland

Disiapkan tabung reaksi yang diisi dengan 5 ml Natrium Klorida 0,9% kemudian diambil koloni *Klebsiella pneumoniae* dan diinokulasikan pada tabung reaksi. Dibaca dan disesuaikan jumlah konsentrasi koloni hingga nilai 0,5 MacFarland.

* + - * 1. Uji sensitivitas antibiotik *ciprofloxacin*

APD digunakan secar baik ,banar dan lengkap serta disiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Suspensi 0,5 MacFarland diinokulasikan pada media MHA dengan menggunakan cotton swab. Ditempelkan antibiotik *ciprofloxacin* pada permukaan media. Diinkubasi pada incubator dengan 37° C selama 24 jam. kemudian dibaca hasil.

* + - * 1. Pengukuran diameter zona hambat

Media MHA yang telah melalui uji sensitivitas kemudian diamati zona hambat yang terdapat disekeliling disk cakram antibiotik *ciprofloxacin* dengan menggunakan jangka sorong atau mistar. Nilai zona hambat kemudian dibandingkan dengan standar CLSI.

1. **Pengolahan dan Analisis Data**

**1. Teknik pengolahan data**

Data hasil pemeriksaan laboratorium diolah dan disajikan dalam bentuk tabel kemudian dianalisis dengan menghitung presentase bakteri *Klebsiella pneumonia* yang ditemukan pada sampel sputum.

1. **Analisis data**

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu analisis yang bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian (Notoatmodjo, 2012). Ada/tidaknya infeksi *Klebsiella pneumoniae* pada sampel sputum penderita ISPA dan bagaimana sensitivitasnya terhadap antibiotik *ciprofloxacin* kemudian dibandingkan standar menurut  *Clinical and Laboratory Standards Institute*,(2018) untuk digolongkan menjadi sensitif (≥ 21), intermediet (16-20) dan resisten (≤ 15).