

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif analitik. Pengambilan sampel dilakukan secara *cross sectional*.

##### B. Populasi dan Sampel

###### 1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah pasien yang memenuhi karakteristik yang telah ditentukan. Populasi terbagi dalam dua macam, yaitu :

###### a. Populasi Target

Pasien dengan gejala batuk kronis.

###### b. Populasi Terjangkau

Pasien rawat jalan dan rawat inap di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta dengan gejala batuk kronis.

###### 2. Sampel

Sampel diambil dari penderita batuk kronis di poliklinik maupun bangsal RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

###### a. Kriteria Inklusi

- 1) Pasien dengan batuk >8 minggu yang telah mendapatkan diagnosis klinis dari dokter.

- 2) Pasien dengan batuk produktif (menghasilkan dahak) dan mampu mengeluarkan dahak.
- 3) Pasien yang telah mendapatkan diagnosis infeksi saluran pernapasan yaitu ISPA, pneumonia, TB paru, asma, dan PPOK.
- 4) Pasien yang bersedia menjadi responden penelitian dan bekerja sama selama proses penelitian berlangsung.
- 5) Bersedia diambil sputum dahaknya untuk dilakukan identifikasi jenis bakteri aerob penyebab batuk kronis.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Pasien dengan batuk kurang dari 8 minggu.
- 2) Pasien yang sedang mengonsumsi obat – obatan untuk infeksi selain infeksi saluran pernapasan, karena dikhawatirkan akan mengganggu hasil penelitian.
- 3) Pasien yang tidak bersedia menjadi responden penelitian.

Penelitian ini menggunakan 30 sampel sesuai dengan teori Roscoe dalam buku *Research Method for Business* yang menyatakan bahwa ukuran sampel minimum yang layak dalam penelitian adalah 30 (Sugiyono, 2010).

**C. Tempat dan Waktu Penelitian**

Pengambilan sampel dilakukan di poliklinik atau bangsal RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta dan identifikasi perbedaan jenis bakteri aerob penyebab batuk kronis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Penelitian dilakukan selama 8 bulan yaitu pada bulan Juli 2014 – Februari 2015.

#### **D. Variabel dan Definisi Operasional**

##### **1. Variabel**

Pada penelitian ini menggunakan 3 variabel, yaitu :

##### **a. Variabel Bebas**

Variabel bebas yaitu jenis bakteri aerob yang didapatkan dari sputum dahak pasien dengan batuk kronis di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta.

##### **b. Variabel Terikat**

Variabel terikat yaitu diagnosis klinis batuk kronis yang dilakukan oleh klinisi RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta.

##### **c. Variabel Pengganggu**

Variabel pengganggu yaitu sterilitas, suhu inkubasi, kontaminasi, dan jumlah sampel.

##### **2. Definisi Operasional**

##### **a. Pasien Batuk Kronis**

Pasien batuk kronis adalah pasien dengan gejala batuk lebih dari 8 minggu pada bagian rawat jalan atau rawat inap di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta.

b. Bakteri Aerob

Bakteri aerob merupakan bakteri yang hanya dapat tumbuh di tempat – tempat yang mengandung oksigen. Bakteri aerob yang mungkin didapatkan misalnya *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, dan spesies *Klebsiella*.

c. Diagnosis Klinis

Diagnosis klinis adalah diagnosis yang dilakukan oleh dokter sesuai kriteria diagnosis terhadap pasien dengan gejala batuk kronis yang berobat rawat jalan atau rawat inap di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta. Diagnosis klinis yang mungkin didapatkan misalnya ISPA, pneumonia, TB paru, asma, dan PPOK.

d. Proses Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sputum pasien dengan gejala batuk kronis > 8 minggu. Proses pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari. Sebelum mengeluarkan sputum, pasien diminta untuk berkumur-kumur dengan air dan pasien harus melepas gigi palsu (bila ada). Cara membatukkan sputum dimulai dengan pasien menarik nafas dalam dan kuat sebanyak 2 – 3 kali dengan pernafasan dada kemudian batukkan kuat sputum ke dalam pot penampung berupa pot steril bermulut besar dan berpenutup. Periksa sputum yang dibatukkan, bila ternyata yang dibatukkan adalah air liur/saliva, maka pasien harus mengulangi membatukkan sputum.

Proses dapat diulang sampai mendapatkan dahak yang berkualitas baik dan volume yang cukup (3-5 ml).

e. Identifikasi Bakteri

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi perbedaan jenis bakteri aerob penyebab batuk kronis berdasarkan diagnosis klinis yang dilakukan oleh klinisi dengan menggunakan pemeriksaan mikroskopik dan kultur.

f. Pemeriksaan Mikroskopik

Identifikasi perbedaan jenis bakteri aerob penyebab batuk kronis melalui pemeriksaan mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada sediaan yang telah dilakukan pengecatan gram dengan sebelumnya ditetesi minyak imersi. Pemeriksaan dilakukan dengan perbesaran 1000 kali untuk mengamati bentuk, susunan, dan sifat terhadap pengecatan gram.

g. Pemeriksaan Kultur

Identifikasi perbedaan jenis bakteri aerob penyebab batuk kronis melalui pemeriksaan kultur dilakukan menggunakan media agar darah, media agar MacConkey, media MSA, dan media TSA untuk mengamati bentuk koloni, warna, dan pigmen bakteri.

h. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzim oksidase yang memegang peranan penting dalam transport elektron selama respirasi aerobik.

## E. Instrumen Penelitian

### 1. Alat

- a. Lidi steril / spuit injeksi
- b. Ose bulat / lancip
- c. Mikroskop cahaya
- d. Objek glass
- e. Kertas saring
- f. Lampu Bunsen
- g. Inkubator
- h. Sarung tangan
- i. Masker

### 2. Bahan

- a. Sampel dahak
- b. Formalin
- c. Alkohol
- d. Minyak imersi
- e. Cat gram
- f. Media agar darah
- g. Media MacConkey
- h. Media TSA
- i. Media MSA
- j. Larutan dimethyl dihydrochloride 1%

## **F. Cara Pengumpulan Data**

### **1. Tahap Persiapan**

- a. Mengurus persyaratan penelitian dan perizinan kepada RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta.
- b. Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan saat penelitian.
- c. Menentukan dan mencari subjek sebagai responden penelitian.

### **2. Tahap Pelaksanaan**

- a. Meminta responden untuk bekerjasama dalam penelitian.
- b. Memberikan penjelasan tentang tujuan penelitian dan peran keikutsertaan dalam penelitian.

### **3. Tahap Pengambilan Data**

#### **a. Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dahak pada pasien dengan gejala batuk kronis dilakukan di poliklinik atau bangsal RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta.

#### **b. Pengambilan Data Diagnosis Klinis**

- 1) Melihat data diagnosis klinis yang dilakukan oleh klinisi RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta di rekam medis.
- 2) Melihat data pengobatan yang sudah dilakukan kepada pasien dengan gejala batuk kronis.

#### **c. Identifikasi Jenis Bakteri Aerob**

Identifikasi jenis bakteri aerob penyebab batuk kronis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah

Yogyakarta dengan menggunakan pemeriksaan mikroskopik dan pemeriksaan kultur.

1) Pemeriksaan Mikroskopik

a). Membuat Sediaan Oles

- (1) Meneteskan cairan formalin pada objek glass sebanyak satu tetes, ratakan lalu panaskan di atas lampu Bunsen. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan lemak dan organisme – organisme yang mungkin terdapat pada objek glass.
- (2) Memijarkan seluruh panjang kawat ose di atas lampu bunsen dan melewati tangkainya di atas api lalu biarkan dingin selama beberapa saat.
- (3) Mengambil satu atau dua koloni bakteri pada media agar darah, MSA, TSA, atau MacConkey dengan menggunakan kawat ose kemudian diletakkan pada objek glass lalu ratakan. Mengeringkan sediaan dengan memanaskan di atas lampu Bunsen dengan jarak tidak terlalu dekat dari api selama beberapa saat.
- (4) Memberi nomor pada sediaan sesuai nomor urut pasien.

b) Melakukan Pengecatan Gram

- a. Tuangkan zat warna Karbol-Gentian ungu (Gram A) pada sediaan oles yang telah tersedia lalu biarkan selama 1 menit.

- b. Zat warna dibuang dan segera diberi larutan lugol (Gram B) tanpa dicuci terlebih dahulu lalu biarkan selama 1 menit.
  - c. Buang larutan lugol dan sediaan dicuci dengan cairan alkohol 96% (Gram C) sampai tidak ada lagi zat warna yang terlarut.
  - d. Cuci sediaan dengan air bersih.
  - e. Tuangkan larutan air Fuschin (Gram D) dan biarkan selama 1 menit.
  - f. Cuci lagi sediaan dengan air kran sampai bersih.
  - g. Keringkan sediaan dengan menggunakan kertas saring.
  - h. Hasil pengecatan : Gram positif berwarna violet dan Gram negatif berwarna merah.
- c) Identifikasi Jenis Bakteri Aerob
- (1) Identifikasi sediaan yang telah dicat gram dengan terlebih dahulu ditetesi minyak imersi dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000 kali.
  - (2) Identifikasi mikroskopik dilakukan untuk melihat bentuk sel, susunan, dan sifat bakteri aerob terhadap pewarnaan gram.
- 2) Pemeriksaan Kultur
- a) Membuat Biakan Pada Media Tanam

- (1) Pakailah sarung tangan dan masker untuk menghindari terjadinya kontaminasi flora normal tubuh pada pembiakan bakteri.
- (2) Letakkan satu atau dua tetes sputum dahak pasien dengan gejala batuk kronis pada media agar darah dan MacConkey yang telah disediakan dengan menggunakan lidi / spuit injeksi (tanpa jarum) untuk
- (3) Pijarkan seluruh panjang kawat ose di atas lampu bunsen. Lewatkan juga tangkainya di atas api, kemudian dinginkan selama beberapa saat.
- (4) Ratakan usapan sputum dahak pada media tanam menggunakan ose.
- (5) Berilah nomor pada media tanam sesuai dengan nomor urut pasien.
- (6) Inkubasi pada suhu 37° Celcius selama 18 – 24 jam.

b) Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim oksidase. Dilakukan pada koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18 – 24 jam menggunakan larutan 1% dimethyl dihydrochloride.

c) Identifikasi Jenis Bakteri Aerob

Identifikasi sediaan secara makroskopik untuk mengamati bentuk koloni, warna, dan pigmen dari setiap jenis bakteri.

## G. Etika Penelitian

### 1. Lembar Persetujuan Menjadi Responden (*informed consent*)

Peneliti menjelaskan maksud dan tujuan penelitian yang akan dilakukan serta peran keikutsertaan responden pada penelitian. Jika calon responden bersedia diteliti, maka mereka diminta untuk menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*) tersebut. Tetapi jika calon responden menolak untuk diteliti, maka peneliti tidak akan memaksa dan tetap menghormati hak-haknya.

### 2. Anonimity (tanpa nama)

Peneliti tidak mencantumkan nama responden dalam lembar pengumpulan data dan hanya akan memberi kode pada data tersebut untuk menjaga kerahasiaan data responden.

### 3. Confidentiality (kerahasiaan)

Kerahasiaan informasi responden dijamin oleh peneliti, hanya data tertentu saja yang akan digunakan dan dilaporkan sebagai hasil penelitian.