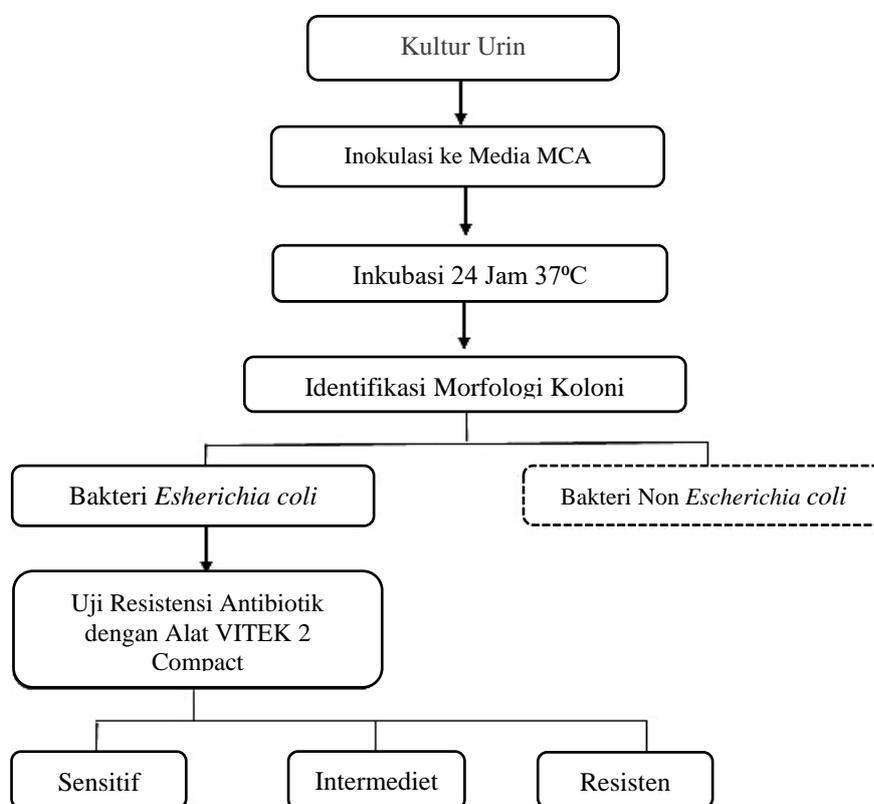


BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis studi yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui pola resistensi antibiotik ampisilin, gentamisin, siprofloksasin, seftriakson, amikasin, meropenem dan tigesiklin terhadap *Escherichia coli* yang diisolasi dari urin penderita Infeksi Saluran Kemih menggunakan metode VITEK 2 Compact.

3.2 Alur Penelitian



Variabel yang diteliti

Variabel yang tidak diteliti

Gambar 3. 1 Alur Penelitian

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh sampel urin pasien dengan diagnosis infeksi saluran kemih (ISK) di Laboratorium Klinik Bunda Thamrin.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini diambil sebagai representasi dari populasi, yaitu sampel urin yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi tersebut antara lain sebagai berikut :

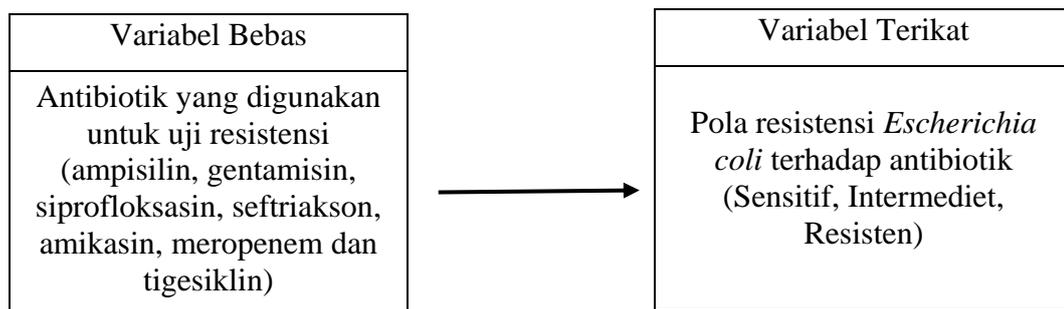
1. **Kriteria Inklusi** : Sampel urin yang teridentifikasi mengandung bakteri *Escherichia coli*
2. **Kriteria Eksklusi** : Sampel urin yang tidak teridentifikasi mengandung bakteri *Escherichia coli*

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan metode non probability sampling menggunakan teknik purposive sampling.

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Klinik Bunda Thamrin, yang beralamat di Jl. Sei Batang Hari No.28-30-42, Babura Sunggal, Kec. Medan Sunggal, Kota Medan, Sumatera Utara. Penelitian ini berlangsung mulai dari tahap penyusunan proposal hingga penulisan laporan akhir dalam rentang waktu Januari hingga Mei 2025.

3.5 Variabel Penelitian



Gambar 3. 2 Variabel Penelitian

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional
Jenis Antibiotik	Antibiotik yang digunakan untuk uji resistensi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> hasil isolasi dari urin penderita ISK.
Pola resistensi	Hasil uji resistensi <i>Escherichia coli</i> terhadap antibiotik yang digunakan berdasarkan metode VITEK 2 Compact.

3.7 Alat, Media, Reagensia dan Sampel Pemeriksaan

3.7.1 Alat

Jarum ose, bunsen, mancis, inkubator, kaca objek (preparat glass), biosafety cabinet, mikroskop, loop, rak tabung, spidol permanen, komputer, mikropipet, tip steril, turbidimeter, VITEK 2 Compact.

3.7.2 Media dan Reagensia

Media MacConkey Agar, alkohol 96%, aquades, gentian violet, lugol, safranin, larutan NaCl 0,45% pH 5,0, minyak imersi, kartu VITEK GN, kartu VITEK AST GN.

3.7.3 Sampel Pemeriksaan

Sampel urin penderita infeksi saluran kemih.

3.8 Prosedur Kerja

3.8.1 Sterilisasi alat dan bahan

Sebelum melakukan penelitian, semua instrumen didisinfeksi. Proses disinfeksi instrumen dilakukan dengan menggunakan autoklaf. Peralatan kaca yang akan digunakan untuk penelitian terlebih dahulu ditutup dengan aluminium foil dan selanjutnya ditempatkan di dalam autoklaf. Setelah aluminium foil dimasukkan ke dalam, autoklaf diaktifkan pada suhu 121 derajat Celcius dengan durasi 15 hingga 20 menit. Setelah itu, instrumen harus didinginkan hingga suhu kamar sebelum dikeringkan (Eka Astuty, 2022).

3.8.2 Kultur urin pasien ISK

Untuk memastikan hasil pemeriksaan urin yang akurat, sebaiknya sampel urin diambil saat pagi hari dan dalam kondisi segar. Ada beberapa cara pengambilan urin, seperti lewat pungsi suprapubik (langsung dari kandung kemih dengan jarum),

memakai kateter, atau mengambil urin porsi tengah (midstream). Dari ketiganya, metode urin porsi tengah adalah yang paling mudah dilakukan dan sering digunakan. Tujuan dari cara pengambilan ini adalah untuk mengurangi kemungkinan sampel terkontaminasi oleh bakteri dari luar saluran kemih, supaya hasil pemeriksaan bisa benar-benar menunjukkan kondisi yang sebenarnya.

Pada pria, terutama yang belum disunat, kulit di ujung penis (preputium) perlu ditarik ke belakang terlebih dahulu. Setelah itu, bagian ujung penis harus dibersihkan dengan air mengalir, dengan gerakan dari atas ke bawah, agar area sekitarnya bersih dari kotoran atau bakteri. Setelah bersih, pasien diminta untuk buang air kecil dan membuang urin pertama sekitar 10 mililiter. Baru setelah itu, urin berikutnya ditampung ke dalam wadah bersih yang bermulut lebar dan sudah disterilkan. Sampel yang sudah dikumpulkan kemudian dilabeli dengan nama pasien, nomor rekam medis, serta tanggal dan waktu pengambilan sebelum dikirim ke laboratorium.

Pada wanita, risiko kontaminasi saat mengambil sampel urin lebih tinggi karena letak saluran kemih yang dekat dengan vagina dan anus. Oleh karena itu, sebelum mengambil sampel, pasien perlu diberi petunjuk untuk memisahkan kedua bibir kemaluan (labia) dan membersihkan area sekitar lubang kencing (uretra) menggunakan kasa bersih yang dibasahi air. Penggunaan antiseptik tidak disarankan karena bisa mengganggu hasil pemeriksaan dan menyebabkan hasil negatif palsu. Setelah membersihkan area tersebut, pasien diminta untuk buang air kecil dan membuang urin pertama sekitar 10 mililiter. Kemudian, urin selanjutnya ditampung ke dalam wadah steril. Seperti pada pria, sampel ini juga perlu diberi label dengan data pasien dan waktu pengambilan sebelum diperiksa lebih lanjut (IAUI, 2021).

3.8.3 Inokulasi ke media MCA

Panaskan ose hingga berpijar, buka tutup cawan petri berisi media MCA. Goreskan ose yang berisi urin pada permukaan media dengan gerakan zig-zag untuk memastikan penyebaran bakteri yang merata. Tutup kembali cawan petri dan letakkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, amati pertumbuhan koloni bakteri pada media (Majid *et al.*, 2020).

3.8.4 Pewarnaan Gram

Langkah pertama, bersihkan kaca objek (preparat glass) menggunakan alkohol 70% untuk memastikan permukaannya steril. Setelah itu, keringkan dan lakukan fiksasi dengan cara melewatkan kaca objek di atas nyala api bunsen selama beberapa detik. Jangan lupa memberi label di bagian bawah kaca objek agar tidak tertukar. Selanjutnya, panaskan jarum ose di atas bunsen hingga pijar untuk mensterilkannya. Setelah dingin, celupkan jarum ose ke dalam aquades, lalu ambil satu ose aquades dan teteskan ke tengah kaca objek.

Setelah itu, jarum ose disterilkan kembali dan digunakan untuk mengambil sedikit koloni bakteri dari media menggunakan teknik aseptik, dan campurkan dengan tetesan aquades di kaca objek hingga merata. Biarkan cairan tersebut mengering secara alami. Setelah kering, teteskan 1–2 tetes larutan gentian violet pada area yang berisi bakteri, diamkan selama 30 detik. Kemudian, cuci kaca objek dengan aquades dan keringkan dengan cara diangin-anginkan. Langkah berikutnya, teteskan 1–2 tetes larutan lugol ke permukaan kaca objek dan diamkan selama 1 menit. Setelah itu, bilas dengan alkohol 70% dan lanjutkan dengan mencuci menggunakan aquades. Setelah dibilas, teteskan larutan safranin sebanyak 1–2 tetes, diamkan selama 30 detik. Cuci kembali kaca objek dengan aquades, lalu keringkan dan biarkan hingga benar-benar kering. Terakhir, amati hasil pewarnaan di bawah mikroskop (Fitrah *et al.*, 2017).

3.8.5 Identifikasi dan uji resistensi dengan VITEK 2 Compact

1. Persiapan alat

Nyalakan seluruh peralatan dengan urutan yang benar, dimulai dari power conditioner, kemudian UPS, instrumen VITEK 2 Compact, dan terakhir komputer. Setelah komputer menyala, pengguna masuk ke sistem dengan username dan password “labtech”. Pada awal dinyalakan, sistem akan menunjukkan status “Warming” dan harus ditunggu hingga berubah menjadi “OK”, menandakan alat siap digunakan.

2. Persiapan sampel

Gunakan isolat bakteri yang berasal dari koloni murni. Setiap isolat membutuhkan dua tabung, masing-masing diisi dengan 3 mL larutan NaCl 0,45% pH 5,0. Koloni kemudian diambil dan dicampurkan ke dalam larutan tersebut

hingga homogen. Setelah itu, kekeruhan suspensi diukur menggunakan alat Turbidimeter. Nilai ideal untuk bakteri adalah antara 0,50–0,63 McF. Bila terlalu keruh, suspensi diencerkan dengan larutan NaCl, dan bila terlalu encer, ditambahkan lagi koloni. Dalam pengujian resistensi antibiotik, sebanyak 145 μ L suspensi diambil dari tabung pertama untuk bakteri Gram negatif, atau 280 μ L untuk bakteri Gram positif, kemudian dipindahkan ke tabung kedua menggunakan mikropipet yang steril. Tabung pertama digunakan untuk proses identifikasi, sedangkan tabung kedua diperuntukkan bagi uji resistensi antibiotik. Setelah itu, siapkan kartu VITEK GN dan AST GN.

3. Entri data pasien

Buka software VITEK 2 Compact di komputer dan login kembali. Lanjutkan dengan mengisi data pasien, seperti nomor rekam medis, nama pasien, nomor laboratorium, dan jenis sampel (misalnya darah, pus, atau sputum), lalu klik OK. Setelah itu, masukkan informasi cassette. Jika menggunakan metode Maintain Virtual Cassette, pilih ikon cassette, lalu masukkan nomor cassette dan scan barcode dari masing-masing kartu. Untuk menghubungkan kartu identifikasi dan sensitivitas yang berasal dari isolat yang sama, tandai dua baris datanya lalu klik sambungkan. Isi juga data tambahan jika ada, seperti hasil beta-laktamase atau jumlah bakteri, lalu simpan data tersebut. Ulangi proses ini untuk tiap isolat yang dikerjakan.

4. Pengoperasian alat

Rak berisi kartu VITEK kemudian dimasukkan ke ruang pengisian dan tombol "Start Fill" ditekan. Proses ini akan berlangsung beberapa menit. Setelah selesai, akan terdengar alarm dan lampu indikator berkedip yang menandakan cassette harus segera dipindahkan ke inkubator. Di dalam inkubator, kartu akan melalui proses pembacaan barcode, pemotongan pipa, dan pemindahan kartu ke dalam ruang inkubasi. Setelah semua proses selesai, cassette dapat dikeluarkan. Proses inkubasi memerlukan waktu beberapa jam, setelah itu hasil akan dicetak secara otomatis oleh alat. Hasil tersebut kemudian diinput ke sistem informasi laboratorium (LIS) dan dilakukan proses otorisasi (Fajarochwati, 2020).

3.9 Pengolahan dan Analisa Data

Data hasil penelitian ini akan dianalisis menggunakan metode analisis deskriptif. Hasil uji resistensi akan dikelompokkan berdasarkan kategori sensitif (S), resisten (R), dan intermediate (I) terhadap masing-masing jenis antibiotik yang digunakan. Selanjutnya, data tersebut akan disajikan dalam format tabel guna mempermudah proses analisis dan interpretasi hasil. Persentase isolat *Escherichia coli* yang sensitif, resisten, dan intermediate akan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Presentase (\%)} = \frac{\text{Jumlah isolat resisten/sensitif}}{\text{Jumlah total isolat}} \times 100\%$$