

## **BAB III**

### **BAHAN DAN METODE**

#### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dari Januari 2015 sampai dengan Desember 2015 di RSUP H. Adam Malik.

#### **3.2. Bahan Dan Alat Penelitian**

Alat yang digunakan untuk mengambil dan memeriksa urin pasien untuk penelitian ini adalah tabung reaksi, tabung incoloum, pot urin steril, kaca objek, ose disposable ukuran 10 $\mu$ l, kapas, tissue, lampu busen, mikroskop elektrik, inkubator, rak pewarnaan, alat dokumentasi, cawan Petridis, tip steril, micropipette 145  $\mu$ l, densi check, dan Vitek 2 compact.

Bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah urin sedangkan bahan yang diperlukan untuk pemeriksaan urin pasien adalah Media Mac-Conkey Agar, Media Blood Agar, Casette Gram Negative, Casette Gram Positive, NaCl 0.45%.

#### **3.3. Metode Penelitian**

Penelitian dilakukan secara deskriptif, yaitu dengan mengkaji resistensi dan sensitivitas bakteri dari sampel urin pasien dengan suspek ISK di RSUP H. Adam Malik terhadap betalaktam dan antibiotik golongan lainnya.

#### **3.4. Populasi dan Sampel Penelitian**

Populasi penelitian ini adalah seluruh data rekam medik pasien ISK di RSUP H. Adam Malik dengan total sampling dalam kurun Januari 2015 sampai dengan Desember 2015.

### **3.5. Prosedur Kerja**

#### **3.5.1. Surat Izin**

Surat izin dari kampus ke RSUP H. Adam Malik Medan kebagian kebagian instalasi mikrobiologi klinik. Setelah menerima surat balasan dari instalasi mikrobiologi klinik kebagian lidbang RSUP H. Adam Malik Medan maka data telah bisa diolah dari instalasi mikrobiologi klinik.

#### **3.5.2. Preparasi Alat dan Bahan**

Media pembenihan bakteri dan alat yang akan digunakan terlebih dahulu dilakukan sterilisasi, agar tidak terkontaminasi. Media agar disterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan dengan tekanan uap  $15\text{ lb/in}^2$  selama 20 menit. Alat penelitian disterilisasi menggunakan oven pada suhu  $170^{\circ}\text{C}$  selama satu jam. Media dan semua alat yang telah steril siap untuk digunakan dalam proses inokulasi bakteri dari urin pasien yang di kirim ke instalasi mikrobiologi klinik.

#### **3.5.3. Penanaman Pada Media**

Sampel urin dikultur di media Mac-Conkey Agar dan media Agar Darah dan MSA dengan menggunakan ose disposable berdiameter  $10\mu$ , kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Kemudian dihitung jumlah bentuk koloni yang tumbuh, dan dilanjutkan dengan pewarnaan gram (Depkes, 2000).

#### **Pewarnaan Gram**

Koloni bakteri yang tumbuh pada media Mac-Conkey Agar, media Agar Darah dan MSA, dihitung jika jumlah koloni-koloni  $10^4$  cfu/ml maka akan dilakukan identifikasi saja. Bila koloni  $10^5$  cfu/ml maka dilakukan identifikasi dengan AST. Lalu dari koloni tersebut dibuat sediaan hapusan dan difiksasi diatas

api Bunsen. Selanjutnya sediaan tersebut diletakkan diatas rak pewarnaan (vrefikaler). Kemudian sediaan dikeringkan, dan dilihat di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa pembesaran 100 kali. Untuk memperjelas pemeriksaan diberi immersi oil pada hapusan sediaan.

#### **3.5.4. Identifikasi dan Uji Sensitivitas**

Sebelum diidentifikasi dan diujisensitivitas, sampel terlebih dahulu diperiksa kekeruhannya dengan menggunakan alat *densi check*. Koloni bakteri murni dan masih muda dimasukkan kedalam tabung yang berisi NaCl 0.45% pH 5 dan dibuat suspensi larutan NaCl standard MacFarland. Kemudian diukur kekeruhan inokulum dengan menggunakan alat *densi check* dengan cara, dimasukkan tabung ke lubang pengukur pada *densi check*, agar hasil pengukuran akan muncul dalam satuan MacFarland. Jika kekeruhan kurang dari 0,5, maka tambahkan koloni bakteri dan jika kekeruhan lebih besar dari 0,62 maka ambil sejumlah koloni dan diencerkan dengan menambah larutan NaCl 0,45% dan kemudian dilakukan identifikasi dengan memakai kartu Vitek 2 (Biomerieux, 2010).

#### **3.5.5. Analisis Data**

Data yang diperoleh ditabulasi untuk menggambarkan pola resistensi bakteri terhadap antibiotik golongan Betalaktam dan sensitivitasnya terhadap antibiotik lain.