

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental kuasi (*quasi experimental*) dengan desain penelitian *pretest* dan *posttest* (*one group pretest posttest design*) di ruang 18 dan 19 RSSA. Sampel didapatkan dari swab hidung, tenggorok maupun luka terbuka (jika ada) dari penderita pada ruang tersebut. Penelitian ini dibagi menjadi tiga fase yaitu fase pre-intervensi, intervensi, dan post-intervensi. Pada fase pre-intervensi dilakukan skrining MRSA terhadap penderita dengan mengambil swab hidung, tenggorokan, dan luka terbuka (jika ada) selama tiga kali, yaitu saat masuk untuk rawat inap, hari kelima, dan/atau saat keluar rumah sakit. Selain itu juga diamati tingkat kepatuhan para petugas kesehatan untuk mencuci tangan sesuai standar WHO. Pada fase intervensi diberikan edukasi mengenai cara mencuci tangan sesuai dengan standar WHO melalui presentasi, pemasangan spanduk mengenai cuci tangan di dalam ruangan dan pemasangan stiker mengenai lima momen cuci tangan dan langkah-langkah cuci tangan yang tepat pada rekam medik penderita dan beberapa sudut ruangan. Selain edukasi juga dilakukan pemasangan *handrub* pada setiap *bed* penderita. Pada fase post-intervensi dinilai kembali tingkat kepatuhan para petugas kesehatan untuk mencuci tangan sesuai standar WHO serta akan dilakukan skrining MRSA kembali terhadap penderita.

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah seluruh penderita yang dirawat di bangsal bedah RSSA. Sampel penelitian adalah seluruh penderita yang dirawat di ruang 18 dan 19 RSSA selama dalam periode penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang diperoleh secara konsekutif.

4.2.1 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Seluruh penderita yang menjalani rawat inap di ruang 18 dan 19 bangsal bedah RSSA selama periode penelitian merupakan sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dalam penelitian ini. Namun, penderita yang meninggalkan bangsal dalam waktu kurang dari 48 jam tidak dimasukkan sebagai sampel penelitian.

4.2.2 Jumlah sampel

Jumlah penderita yang akan terlibat masing-masing dalam fase pre-intervensi dan post-intervensi penelitian ini dihitung berdasarkan rumus di bawah ini:

$$m = \frac{2 \times [z_{(1-\frac{\alpha}{2})} + z_{(1-\beta)}]^2}{\Delta^2} \quad \Delta = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{\bar{p} \times (1-\bar{p})}} \quad \text{dimana } \bar{p} = \frac{(p_1 + p_2)}{2}$$

(Sakpal, 2010)

p_1 = presentase angka karier MRSA pada penderita di bangsal bedah pada penelitian sebelumnya yakni sebesar 10%,

p_2 = presentase angka karier MRSA pada penderita di bangsal bedah yang diharapkan pada penelitian ini yakni sebesar 5% (Santosaningsih, 2011, *unpublished data*)

Menggunakan nilai level signifikansi 5%, $z_{(1-\frac{\alpha}{2})} = 1,96$ dan kekuatan 80%,

$$z_{(1-\beta)} = 0,8416$$

Jumlah penderita (m) = 435 penderita/fase ~ 450 penderita masing-masing pada fase pre intervensi dan post intervensi.

4.3 Variabel Penelitian

Terdapat dua hal yang diamati dalam penelitian ini.

1. Variabel bebas: Tindakan intervensi terhadap petugas kesehatan di ruang 18 dan 19 RSSA

Variabel tergantung: Tingkat kepatuhan cuci tangan sesuai standar WHO oleh petugas kesehatan di ruang 18 dan 19 RSSA

2. Variabel bebas: Tingkat kepatuhan cuci tangan sesuai standar WHO oleh petugas kesehatan di ruang 18 dan 19 RSSA

Variabel tergantung: Angka karier MRSA pada penderita yang menjalani rawat inap di ruang 18 dan 19 RSSA.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di ruang 18 dan 19 RSSA untuk mempermudah mencapai jumlah sampel yang sesuai dalam waktu yang lebih singkat yaitu sejak Januari 2013 hingga Agustus 2013.

4.5 Definisi Istilah/Operasional

1. Petugas kesehatan : seluruh pekerja di bidang kesehatan yang berada di lingkungan bangsal dan kontak dengan penderita, yaitu perawat, dokter, staf farmasi, staf gizi, staf administrasi, mahasiswa kedokteran, dan para pelajar perawat.
2. Ruang 18 RSSA: ruang perawatan bedah untuk pasien wanita yang berada di instalasi rawat inap II RSSA
3. Ruang 19 RSSA : ruang perawatan bedah untuk pasien pria yang berada di instalasi rawat inap II RSSA.
4. Sampel lengkap: sampel swab dari pasien dikatakan lengkap apabila swab diperoleh saat masuk rumah sakit dan saat hari kelima dan/atau saat keluar rumah sakit dengan ketentuan minimal diperoleh dua waktu pengambilan swab
5. Tindakan intervensi: tindakan edukasi kepada para petugas kesehatan tentang cuci tangan sesuai standar WHO dan pemasangan *handrub* alkohol-gliserin dengan kandungan klorheksidin 0,5% pada setiap *bed* pasien di ruang 18 dan 19 RSSA untuk disinfeksi kulit tangan petugas kesehatan dan akan diganti setiap habis.
6. Angka Karier MRSA: jumlah karier MRSA pada penderita di bangsal bedah tanpa menunjukkan gejala infeksi MRSA, namun penderita menjadi sumber penyebaran bakteri infeksi tersebut. Angka karier dihitung dengan rumus sebagai berikut

$$\text{Angka Karier MRSA} = \frac{\text{Jumlah penderita karier MRSA}}{\text{Jumlah penderita yang diskринing}} \times 100\%$$

6. Angka Kepatuhan Cuci Tangan sesuai Standar WHO: tingkat kepatuhan para petugas kesehatan untuk mencuci tangannya sesuai dengan standar WHO.

Dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Angka Kepatuhan} = \frac{\text{Jumlah kepatuhan cuci tangan yang diamati}}{\text{Jumlah seluruh momen yang diamati}} \times 100\%$$

4.6 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.6.1 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

1. Bahan-bahan untuk tindakan intervensi adalah
 - a. bahan presentasi berisi materi cuci tangan sesuai standar WHO beserta laptop
 - b. spanduk mengenai cuci tangan sesuai standar WHO
 - c. stiker yang berisi gambar cara mencuci tangan yang tepat sesuai standar WHO
 - d. stiker mengenai lima langkah cuci tangan sesuai standar WHO
 - e. lembar informasi mengenai cuci tangan sesuai standar WHO
 - f. *hand-rub* alkohol-gliserin dengan kandungan klorheksidin 0,5%
2. Bahan-bahan untuk identifikasi MRSA yaitu
 - a. bahan untuk kultur bakteri :
 - 1) Medium cair *phenyl red mannitol broth*
 - 2) Medium Chromagar *S. aureus* dan MRSA
 - b. Bahan untuk uji koagulase yaitu
 - 1) StaphAurex plus kit

- c. Bahan untuk uji katalase yaitu
 - 1) H_2O_2 3%
- d. Bahan untuk uji kepekaan antibiotika yaitu
 - 1) agar Mueller Hinton
 - 2) *cefloxitin* disk 30 μg
- e. Bahan untuk isolasi DNA yaitu
 - 1) TBE buffer
- f. Bahan untuk PCR dan elektroforesis DNA yaitu
 - 1) TE buffer
 - 2) TBE buffer
 - 3) Agarose
 - 4) EtBr
 - 5) PCR mix
 - 6) DNA leader

4.6.2 Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

- a. Alat-alat untuk pengambilan sampel yaitu
 - 1) spatel lidah
 - 2) lidi dakron
- b. Alat-alat yang digunakan untuk identifikasi MRSA
 - 1) Alat-alat untuk kultur bakteri, uji katalase, dan uji koagulase adalah
 - a) Ose,
 - b) Tabung reaksi
 - c) Cawan petri

- d) Spiritus
 - e) *Incubator*
 - f) Kapas lidi steril
- 2) Untuk isolasi DNA bakteri diperlukan alat-alat yaitu
- a) *Waterbath*
 - b) Sentrifugasi
 - c) *Eppendorf*
 - d) *Mikropipet*
 - e) *Disposable ose*
- 3) Untuk PCR dan elektroforesis diperlukan alat-alat yaitu
- a) Mesin PCR
 - b) *Incubator*
 - c) *Elektroforesis horizontal*
 - d) *Gel documental system*
 - e) *PCR tube*

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Fase Penelitian

Fase 1: Fase pre-intervensi

Fase 1 dilakukan skrining MRSA pada penderita untuk mengetahui epidemiologi *S. aureus* khususnya MRSA di ruang 18 dan 19 RSSA. Skrining pada penderita dilakukan tiga kali yaitu saat penderita masuk rawat inap, saat telah menjalani rawat inap selama lima hari dan saat keluar dari rumah sakit dengan mengambil swab hidung, tenggorok, dan lesi kulit yang terbuka (jika ada). Selain itu tingkat kepatuhan petugas kesehatan untuk mencuci tangan sesuai standar WHO akan diamati beberapa kali selama penelitian ini.

Pengamatan ini menilai lima waktu yang tepat untuk mencuci tangan, seperti yang dijelaskan dalam standar WHO, dan menghitung momen yang dipatuhi oleh petugas kesehatan untuk mencuci tangan. Lima momen untuk mencuci tangan berdasarkan petunjuk WHO adalah:

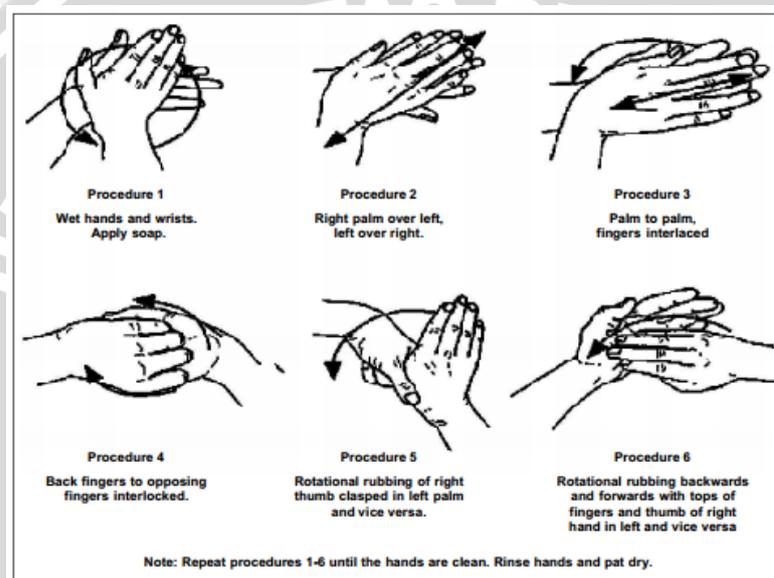
1. Sebelum menyentuh penderita
2. Sebelum melakukan prosedur aseptik
3. Setelah terekspos dengan cairan tubuh
4. Setelah menyentuh penderita
5. Setelah menyentuh sekeliling penderita (contohnya setelah menyentuh tempat tidur atau meja penderita)

Observasi dilakukan selama 2-3 hari untuk mendapatkan jumlah momen pengamatan yang cukup.

Fase 2: Fase intervensi

Fase ini dilakukan beberapa tindakan intervensi untuk menurunkan penyebaran MRSA di antara penderita dan petugas kesehatan. Tindakan intervensi yang dilakukan berupa edukasi kepada para petugas kesehatan melalui edukasi tentang cuci tangan sesuai standar WHO dilakukan seminggu sekali dihadiri oleh perawat, pelajar perawat, staf administrasi, staf farmasi dan staf gizi. Edukasi juga diberikan dalam bentuk pemasangan spanduk mengenai cuci tangan sebanyak masing-masing dua buah di ruang 18 dan 19 RSSA, pemberian lembar informasi mengenai cuci tangan sesuai standar WHO pada pelajar perawat di ruang 19 RSSA yang wajib dibaca dan dipahami sebelum bekerja, dan pemasangan stiker mengenai lima momen cuci tangan yang dipasang di

rekam medik penderita dan stiker mengenai langkah-langkah cuci tangan yang sesuai standar WHO di beberapa sudut ruangan yang sering dilihat oleh petugas kesehatan (Gambar 4.1). Selain edukasi, dilakukan pemasangan *handrub* alkohol-gliserin dengan kandungan klorheksidin 0,5% pada setiap *bed* pasien di ruang 18 dan 19 RSSA untuk disinfeksi kulit tangan petugas kesehatan dan akan diganti setiap habis.



Gambar 4.1 Prosedur Mencuci Tangan Sesuai Standar WHO (WHO, 2004)

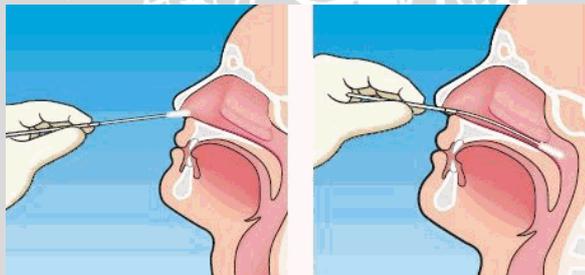
Fase 3: Fase post-intervensi:

Pada fase akhir ini, skrining MRSA terhadap penderita dan kepatuhan cuci tangan petugas kesehatan sesuai dengan standar WHO akan dimonitor seperti yang dilakukan pada fase 1 untuk mengamati pengaruh dari tindakan intervensi yang telah dilakukan.

4.7.2 Prosedur Pengambilan Sampel

4.7.2.1 Prosedur Pengambilan Sampel Swab Hidung

Penderita diberikan penjelasan terlebih dahulu mengenai tindakan yang akan dilakukan. Selanjutnya penderita diminta untuk duduk dengan kepala ditegakkan. Masukkan lidi dakron ke dalam rongga hidung kanan. Posisi lidi tegak lurus. Panjang lidi yang masuk kira-kira setengah jarak ujung hidung sampai telinga. Putar searah jarum jam sampai menyentuh dinding belakang nasofaring, kemudian tarik keluar. Lakukan hal yang sama dengan rongga hidung kiri dengan lidi dakron yang sama namun dengan arah yang berlawanan jarum jam. Setelah selesai masukkan lidi dakron ke dalam tempat spesimen. Tempat spesimen yang akan dikirim ke laboratorium diberi label yang memuat tanggal pengambilan spesimen, identitas penderita yaitu nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medik, dan juga jenis spesimen. Pengiriman spesimen dilakukan dengan menggunakan cool box (2-8°C) kecuali jika waktu perjalanan yang diperlukan kurang dari 24 jam.

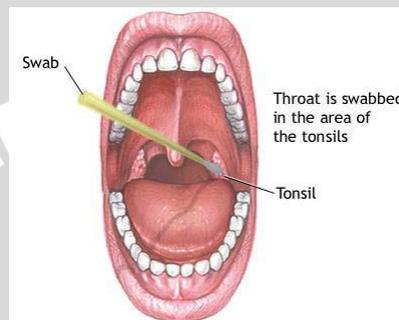


Gambar 4.2 Pengambilan Sampel Swab Hidung (Gupta, 2009)

4.7.2.2 Prosedur Pengambilan Sampel Swab Tenggorok

Penderita diberi penjelasan mengenai tindakan yang akan dilakukan. Penderita diminta untuk duduk dan membuka mulut. Lidah ditekan dengan spatel lidah. Masukkan lidi dakron hingga menyentuh dinding belakang faring dan tonsil lalu tarik keluar dengan hati-hati tanpa menyentuh bagian mulut lain. Setelah

selesai masukkan lidi dakron ke dalam tempat spesimen. Tempat spesimen yang akan dikirim ke laboratorium diberi label yang memuat tanggal pengambilan spesimen, identitas penderita yaitu nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medik, dan juga jenis spesimen. Pengiriman spesimen dilakukan dengan menggunakan cool box ($2-8^{\circ}\text{C}$) kecuali jika waktu perjalanan yang diperlukan kurang dari 24 jam.



Gambar 4.3 Pengambilan Sampel Swab Tenggorok (Vorvick, 2012)

4.7.2.3 Prosedur Pengambilan Sampel Swab Luka Terbuka

Penderita diberi penjelasan mengenai tindakan yang akan dilakukan. Usapkan lidi dakron pada luka terbuka tanpa menyentuh bagian tepi luka. Setelah selesai masukkan lidi dakron ke dalam tempat spesimen. Tempat spesimen yang akan dikirim ke laboratorium diberi label yang memuat tanggal pengambilan spesimen, identitas penderita yaitu nama, umur, jenis kelamin, nomor rekam medik, dan juga jenis spesimen. Pengiriman spesimen dilakukan dengan menggunakan cool box ($2-8^{\circ}\text{C}$) kecuali jika waktu perjalanan yang diperlukan kurang dari 24 jam.



Gambar 4.4 Pengambilan Sampel Swab Luka Terbuka (Clarke, 2003)

4.7.3 Prosedur Identifikasi MRSA

4.7.3.1 Kultur

Sampel dari penderita langsung diinokulasikan ke dalam medium *phenyl red mannitol broth*, diinkubasikan semalam pada suhu 37°C dan hanya medium yang berubah warna menjadi kuning yang akan disubkultur pada medium *Chromagar S. aureus* selama 24-48 jam pada suhu 37°C dan kemudian akan diinspeksi koloni tipikal yang menunjukkan *S. aureus*. Warna merah muda mengindikasikan koloni *S. aureus*, sedangkan koloni bakteri lain akan dihambat pertumbuhannya atau tampil sebagai koloni yang berwarna lain seperti biru atau putih (Rambach, 2010).

4.7.3.2 Uji Katalase dan Koagulase

Koloni tipikal yang tumbuh pada *Chromagar* MRSA diambil untuk kemudian dilakukan tes katalase dan koagulase untuk mendapatkan konfirmasi *S. aureus*. Untuk uji katalase, ambil sedikit koloni bakteri untuk diletakkan diatas slide, kemudian tetesi dengan 3% H₂O₂ di atas bakteri tersebut. Kemudian diamati pembentukan gelembung gas yang terbentuk, jika terbentuk gelembung gas maka uji katalase positif (Reiner, 2012).

Untuk uji koagulase dapat dilakukan dengan *slide test*. Slide test digunakan untuk menguji *bound coagulase clumping factor* saja. Uji koagulase dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes *StaphAurex Plus* pada card kemudian mengambil satu koloni murni bakteri dengan stik dan dibuat suspensi. Hasil dikatakan positif apabila ada penggumpalan warna putih yang nampak (Brown, 2005).

4.7.3.3 Uji Kepekaan Antibiotika

Isolat MRSA akan dideteksi secara fenotipik dengan metode *disk diffusion test* dengan disk *cefoxitin* 30 µg pada agar *Mueller Hinton* dengan menggunakan suspensi bakteri kekeruhan 0,5 McFarland. Plate diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Hasilnya kemudian diinterpretasikan menggunakan pedoman CLSI 2012 yang mana dikatakan sensitif apabila diameter zona inhibisi ≥ 22 mm dan resisten apabila ≤ 21 mm (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

4.7.3.4 Uji Keberadaan Gen *mecA* dengan PCR

4.7.3.4.1 Isolasi DNA

Mulanya dibuat suspensi bakteri *S. aureus* dalam TE buffer 200 µl kemudian dipanaskan dengan suhu 95°C selama 10 menit. Setelah itu lakukan sentrifugasi kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit dalam suhu ruangan. Maka tahap isolasi DNA sudah selesai, hasilnya dapat langsung digunakan atau disimpan di dalam *freezer* -20°C jika tidak langsung digunakan (Pimenta *et al.*, 2008).

4.7.3.4.2 *mecA* PCR

Untuk PCR digunakan 2 µl template DNA, 1 µl untuk setiap primer dan 12,5 µl Gen Amp DNA amplification kit untuk PCR, di mana amplifikasi DNA dilakukan sebanyak 40 siklus dalam campuran reaksi 25 µl dengan program sebagai berikut: denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. 10 µl produk PCR kemudian dianalisa

dengan 2% agarose gel electrophoresis. Kontrol positif dan kontrol negatif disertakan di setiap running PCR (Murakami *et al.*, 1991).

Setelah selesai PCR, dilakukan elektroforesis pada gel Agarose 1,5% ditambah EtBr 7 μ l. Sampel hasil PCR ditambahkan loading dye 5 μ l dimasukkan ke dalam sumur-sumur agarose sebanyak 10 μ l. Digunkana petanda DNA dengan ukuran 100 bp. Elektroforesis DNA dilakukan selama 60 menit dengan 100mA dengan voltasi konstan. Hasilnya dilihat dengan *gel documentation system* (Murakami *et al.*, 1991).

4.8 Analisis Data

Analisa data dilakukan dengan uji *chi square* (X^2). Hasil analisis dinilai bermakna bila $p < 0,05$. Uji statistik di atas dianalisis dengan menggunakan program statistik SPSS versi 20 untuk *Windows*.

