

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian deskriptif yaitu untuk melihat ada atau tidaknya cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap tempat tidur dan tiang infus pasien yang terdapat pada ruang perawatan kelas III di Rumah Sakit “X” Surakarta. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara melakukan *Swab* pada area tiang infus dan pegangan tempat tidur pasien yang mana diindikasikan sebagai tempat cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Prosedur *Swab* dilakukan dengan cara mengusapkan kapas lidi steril secara aseptis pada permukaan tiang infus dan pegangan tempat tidur pasien. Hasil *Swab* dimasukkan ke dalam BHI dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 6 Februari - 28 Februari 2025.

2. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta dan identifikasi dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Universitas Setia Budi..

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tempat tidur dan tiang infus pasien yang berada di Ruang Rawat Inap kelas III di Rumah Sakit “X” Surakarta. Jumlah tiang infus di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta berjumlah 20 buah dan Jumlah tempat tidur pasien di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta berjumlah 20 buah. Sehingga total keseluruhan populasi adalah 40.

2. Sampel Penelitian

Sampel diambil menggunakan teknik *Purposive Sampling* yaitu sampel ditentukan berdasarkan pertimbangan tertentu dari populasi tempat tidur dan tiang infus yang berada di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta.

Berdasarkan total populasi tempat tidur dan tiang infus pasien yang berjumlah 40 buah maka diambil masing-masing sebanyak 10 buah tempat tidur dan tiang infus yang dijadikan sebagai sampel penelitian dengan klasifikasi sebagai berikut:

- a. Tempat tidur dan tiang infus dipakai pasien masing-masing berjumlah 6 buah.
- b. Tempat tidur dan tiang infus tidak dipakai pasien masing-masing berjumlah 4 buah dan dibagi menjadi 2 kelompok sebagai berikut:

- 1) Tempat tidur dan tiang infus sebelum dilakukan desinfeksi masing-masing berjumlah 2 buah.
- 2) Tempat tidur dan tiang infus setelah dilakukan desinfeksi masing-masing berjumlah 2 buah.

Berdasarkan Permenkes Nomor 27 tahun 2017 tentang Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan, tempat tidur pasien dan tiang infus masuk dalam kategori non kritikal. Standar Operasional Prosedur (SOP) prosedur dekontaminasi untuk kategori non kritikal adalah menggunakan alkohol 70% (Permenkes, 2017). Sementara itu, peralatan harus terkena germisida (desinfektan) dalam interval waktu bersama kontak minimum yang sesuai (Rutala & Weber, 2024).

Berbagai penelitian telah menunjukkan efektivitas desinfektan tingkat rendah terhadap bakteri vegetatif (*Listeria*, *E. coli*, *Salmonella*, VRE, MRSA), ragi (*Candida sp.*), mikobakteri (*M. tuberculosis*), dan virus (*poliovirus*) pada waktu paparan 30–60 detik (Rutala & Weber, 2024). Dengan demikian, waktu pengambilan *Swab* pada tempat tidur dan tiang infus setelah dilakukan desinfeksi adalah setelah 60 menit untuk menilai adanya cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang terjadi setelah dilakukan desinfeksi.

D. Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagian tiang infus yang dilakukan usapan (*Swab*) untuk sampel adalah bagian tiang karena berpotensi terjadinya kontak langsung dari pasien maupun pengunjung serta tenaga kesehatan yang bertugas sehingga sangat memperkuat dugaan adanya pencemaran bakteri.
2. Bagian tempat tidur yang dilakukan usapan (*Swab*) untuk sampel adalah bagian *handle* (pegangan) hingga bagian pinggir tempat tidur pasien yang dimungkinkan adanya resiko kontak langsung dari pasien sehingga memungkinkan adanya resiko pencemaran.
3. *Staphylococcus aureus* diidentifikasi dengan mengisolasi bakteri pada media MSA dilanjutkan dengan pengujian biokimia (katalase dan koagulase) serta pewarnaan Gram.
4. *Pseudomonas aeruginosa* diisolasikan pada media selektif PSA dilanjutkan pengujian biokimia (KIA, LIA, SIM, citrat) dan pewarnaan Gram untuk diidentifikasi.

E. Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah tempat tidur dan tiang infus pasien di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta.

2. Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian ini adalah ada atau tidaknya cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel *Swab* tempat tidur dan tiang infus pasien di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Berikut ini adalah alat yang digunakan dalam penelitian, diantaranya sebagai berikut:

- a. APD lengkap (jas laboratorium, masker, *handscoon*)
- b. *Laminar Air Flow* atau *entkas*
- c. Tabung reaksi
- d. Objek gelas
- e. Mikroskop
- f. *Tissue*
- g. Kotak kontainer
- h. Ose lurus
- i. Ose bulat
- j. Rak pengecatan
- k. Pembakar spiritus
- l. Inkubator
- m. Cawan petri
- n. Kapas lidi steril

2. Bahan

Berikut ini adalah bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya sebagai berikut:

- a. NaCl
- b. Pewarna Gram
 - 1) Cat Gram A (Kristal Violet)
 - 2) Larutan Gram B ($\text{JKJ} \rightarrow$ iodium, kalium, iodida)
 - 3) Larutan Gram C (Alkohol aseton)
 - 4) Cat Gram D (Safranin)
- c. Reagen H_2O_2
- d. Plasma sitrat
- e. Media BHI (*Brain Heart Infusion*)
- f. Media Agar Miring NA (*Nutrient Agar*)
- g. Media MSA (*Manitol Salt Agar*)
- h. Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)
- i. Media KIA (*Kligler's Iron Agar*)
- j. Media LIA (*Lysin Iron Agar*)
- k. Media SIM (*Sulfide, Indole, Motility*)
- l. Minyak imersi

G. Prosedur Penelitian

1. Identifikasi *Staphylococcus aureus*

a. Hari ke I : Pengambilan dan persiapan sampel.

- 1) Disiapkan Alat dan bahan yang digunakan dalam pengambilan sampel *Swab* tempat tidur dan tiang infus.
- 2) Kaps lidi steril diusapkan ke permukaan tiang infus atau pegangan tempat tidur pasien yang akan diperiksa (1 kaps lidi untuk 1 alat).
- 3) Diinokulasikan ke dalam media penyubur BHI (1 media BHI untuk hasil usapan 1 alat).
- 4) Segera BHI yang berisi sampel *Swab* alat dibawa ke laboratorium.
- 5) Media BHI diinkubasi sekitar 30 menit pada suhu 37°C di inkubator.
- 6) Kekeruhan dari BHI diisolasi pada media MSA selama 24 jam pada suhu 37°C di inkubator.

b. Hari ke II : Menginokulasi ke media Agar Miring (NA)

- 1) Koloni diamati pada media MSA.

Ukuran : Kecil

Warna koloni : Kuning

Apabila koloni yang dihasilkan kecil dan jumlahnya sedikit, inkubasi dapat dilanjutkan kembali selama 24-48 jam di inkubator pada suhu 37°C.

- 2) Koloni yang didapatkan dari media MSA diinokulasikan pada media Agar Miring (NA) selama 24 jam pada suhu 37°C di inkubator.

c. Hari ke III : Uji biokimia (uji katalase, uji koagulase), dan pewarnaan Gram.

1) Uji Katalase

- a) Koloni pada media Agar Miring (NA) diambil menggunakan ose dan ditempatkan pada objek glass.
- b) H_2O_2 ditambahkan pada koloni tersebut.
- c) Diamati adanya gelembung gas.

Hasil : (+) Terjadi gelembung gas

2) Uji Koagulase

- a) Koloni pada media Agar Miring (NA) diambil menggunakan ose dan ditempatkan pada tabung reaksi.
- b) Satu tetes plasma sitrat ditetaskan dalam tabung reaksi tersebut.
- c) Koloni bakteri dicampur dengan plasma sitrat secara merata.
- d) Dinkubasi sekitar 4 jam di dalam inkubator suhu $37^\circ C$.
- e) Diamati adanya gumpalan (aglutinasi),

Hasil : (+) Terjadi aglutinasi

3) Pewarnaan Gram

- a) Satu sampai dua ose koloni pada media Agar Miring (NA) diambil, lalu diratakan pada objek glass steril, bersih dan bebas lemak. Preparat ditunggu hingga kering, kemudian difiksasi diatas nyala api pembakar spirtus.
- b) Preparat diletakan pada rak pengecatan, preparat digenangi dengan Kristal Violet (Gram A) selama 5 menit, sisa cat dibuang.
- c) Preparat digenangi dengan larutan JKJ (Gram B), diamkan selama 30 detik, buang sisa larutan kemudian preparat dicuci dengan air mengalir.
- d) Dekolorisasi preparat dengan alkohol 96 % (Gram C) sampai warna luntur dan dibilas dengan air mengalir.
- e) Preparat digenangi dengan Safranin (Gram D), lalu diamkan selama 1-2 menit. Sisa cat dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat dikering anginkan.
- f) Preparat yang sudah kering diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran total 1000 kali dengan minyak imersi.
- g) Diamati secara mikroskopis.

Warna sel : Ungu

Bentuk : *Coccus* (bulat)

Susunan : Bergerombol

Sifat : Gram positif

2. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

a. Hari ke I : Pengambilan dan persiapan sampel.

- 1) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan dalam pengambilan sampel *Swab* tempat tidur dan tiang infus tempat tidur pasien.
- 2) Kapas lidi steril diusapkan ke permukaan tiang infus atau pegangan tempat tidur pasien yang akan diperiksa (1 kapas lidi untuk 1 alat).
- 3) Diinokulasikan ke dalam media penyubur BHI (1 media BHI untuk hasil usapan 1 alat).
- 4) BHI yang berisi sampel *Swab* alat segera dibawa ke laboratorium.
- 5) Media BHI diinkubasi selama sekitar 30 menit pada suhu 37°C di inkubator.
- 6) Kekeruhan dari BHI diisolasi pada media PSA selama 24 jam pada suhu 37°C di inkubator.

b. Hari ke II : Pengamatan koloni, uji biokimia (KIA, LIA, SIM, citrat), dan pewarnaan Gram.

- 1) Dilakukan pengamatan koloni yang tumbuh pada media PSA secara makroskopis

Bentuk : Bulat

Ukuran : Kecil

Warna koloni : Hijau

Apabila koloni yang dihasilkan belum meyakinkan, kecil, dan jumlahnya sedikit, inkubasi dapat dilanjutkan kembali selama 24-48 jam di inkubator pada suhu 37°C.

2) Uji biokimia

Diinokulasikan 1 ose koloni yang tumbuh di media PSA pada media biokimia, yaitu:

- a) KIA (*Kligler's Iron Agar*), dengan jalan ditusuk dan digores.
- b) LIA (*Lysin Iron Agar*), dengan jalan ditusuk dan digores.
- c) SIM (*Sulfide, Indole, Motility*), dengan jalan ditusuk.
- d) Citrat, dengan jalan digores.

Media biokimia dinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C di inkubator.

3) Pewarnaan Gram

- a) Satu sampai dua ose koloni pada media PSA diambil lalu diratakan pada objek glass steril, bersih dan bebas lemak. Preparat ditunggu hingga kering, kemudian difiksasi diatas nyala api pembakar spirtus.
- b) Preparat diletakan pada rak pengecatan, preparat digenangi dengan Kristal Violet (Gram A) selama 5 menit, sisa cat dibuang.
- c) Preparat digenangi dengan larutan JKJ (Gram B), diamkan selama 30 detik, sisa larutan dibuang kemudian preparat dicuci dengan air mengalir.
- d) Dekolorisasi preparat dengan alkohol 96 % (Gram C) sampai warna luntur dan dibilas dengan air mengalir.

e) Preparat digenangi dengan Safranin (Gram D), lalu diamkan selama 1-2 menit. sisa cat dibuang dan dicuci dengan air mengalir. Preparat dikering anginkan.

f) Preparat yang sudah kering diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran total 1000 kali dengan minyak imersi.

g) Diamati secara mikroskopis

Warna sel : Merah

Bentuk : Basil (batang)

Susunan : Menyebar

Sifat : Gram negatif

c. Hari ke IV : Pengamatan hasil uji biokimia

1) Hasil uji biokimia diamati untuk mendeteksi adanya cemaran

Pseudomonas aeruginosa, sebagai berikut:

KIA : K/K S-

LIA : K/K S-

SIM : - - +

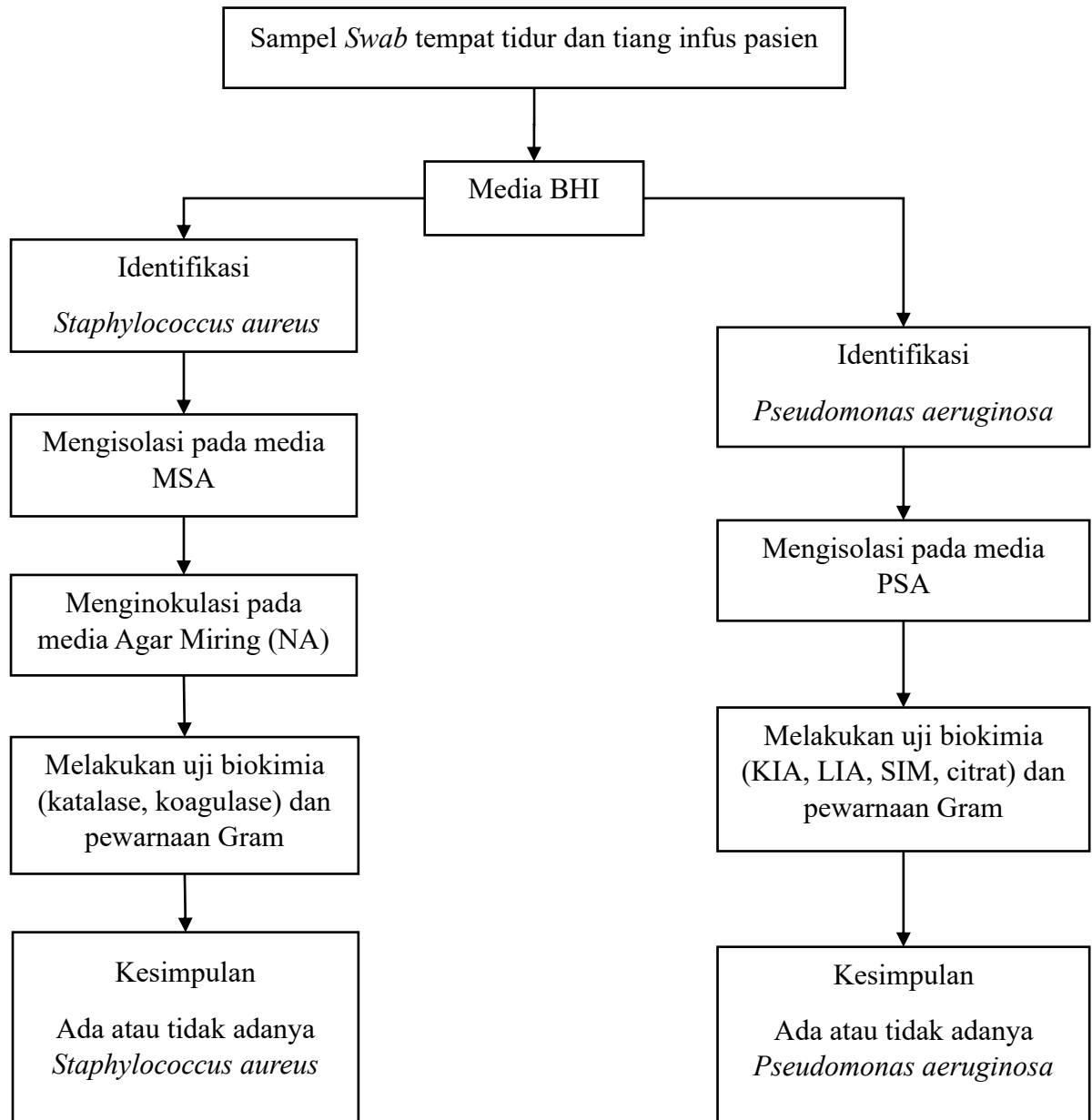
Citrat : +

H. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah *Purposive Sampling*, yaitu sampel ditentukan berdasarkan pertimbangan tertentu dari populasi tempat tidur dan tiang infus pasien yang berada di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta.

I. Teknik Analisis Data

Data yang didapat dari penelitian ini dianalisis kemudian dilakukan penarikan kesimpulan dari semua hasil yang diperoleh dari analisis di laboratorium. Sampel *Swab* tempat tidur dan tiang infus pasien di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta mengandung cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan hasil uji yang positif. Sementara itu, Sampel *Swab* tempat tidur dan tiang infus pasien di Ruang Rawat Inap kelas III Rumah Sakit “X” Surakarta tidak mengandung cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan hasil uji yang negatif.

J. Alur Penelitian**Bagan 3.1** Alur Penelitian