

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis observasional deskriptif dengan menggunakan pendekatan cross sectional.

B. Lokasi dan waktu penelitian

1. Lokasi Penelitian

- a. Tempat pengambilan sampel dilakukan di pasar daerah Surabaya Barat yaitu Pasar Dukuh Kupang, Pasar Kupang Gunung, Pasar Simo Gunung, Pasar Darmo, dan Pasar Darmo Permai.
- b. Identifikasi ESBL dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Maret 2023.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

a. Identifikasi dan batasan populasi atau subyek penelitian

Daging ayam broiler yang dijual di Pasar daerah Surabaya Barat.

b. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi : Daging ayam broiler yang baru di potong <1 hari

Kriteria eksklusi: Daging ayam broiler yang sudah dipotong beberapa hari

2. Sampel

Sampel penelitian berupa ayam broiler yang diambil dari pedagang ayam potong di beberapa pasar daerah Surabaya Barat.

a. Besar Sampel

Rumus besar sampel pada penelitian ini menggunakan ukuran sampel minimum pada penelitian deskriptif adalah 30 sampel. Dalam penelitian ini menggunakan sebanyak 50 sampel. Rumus ini menggunakan acuan pada buku Basic and Clinical Biostatistics.

b. Prosedur dan teknik pengambilan sampel

1) Tahap Persiapan

a) Pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel dengan metode random sampling. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Februari-Maret tahun 2023 di pasar daerah Surabaya Barat yaitu Pasar Dukuh Kupang, Pasar Kupang Gunung, Pasar Simo Gunung, Pasar Darmo, dan Pasar Darmo Permai. Pengambilan sampel ini dilakukan pada pagi saat proses penjualan. Namun sebelum melakukan pengambilan sampel, maka perlu disiapkan

terlebih dahulu alat dan bahan yang diperlukan seperti kotak sampel, larutan alkohol 70%, plastik sampel, spidol permanent dan sarung tangan. Pengambilan sampel berupa daging Ayam Broiler. Proses pengambilan sampel daging dipasar sebagai berikut (Rafika, 2018):

- 1) Mempersiapkan lembar observasi sesuai pasar dan penjual tempat pengambilan sampel.
- 2) Memakai sarung tangan sesuai standar dalam laboratorium.
- 3) Mencuci tangan dengan larutan alkohol 70%.
- 4) Mengambil sampel daging Ayam Broiler lalu masukkan ke dalam plastik steril kemudian diikat.
- 5) Masukkan kedalam kotak sampel yang telah disiapkan

b) Sterilisasi alat

Sterilisasi alat ini setiap hari dilakukan untuk mematikan semua mikroorganisme yang terdapat dalam suatu alat yang sudah dipakai sebaiknya dimasukkan kedalam Autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian diangkat lalu bersihkan dengan air dan masukkan kedalam baskom beri sunlight dan air kemudian rendam, setelah direndam lalu cuci hingga bersih dan tiriskan. Sebelum dimasukkan kedalam oven bungkus dengan aluminium foil seperti gunting, pinset, botol pengencer dan Erlenmeyer. Sedangkan cawan petri dibersihkan dulu dengan kapas alkohol, tabung reaksi yang tanpa penutup diisi tabung durham dan ditutup

dengan gulungan kapas, kemudian dibungkus dengan paper oil, setelah di bungkus lalu dimasukkan kedalam dos kemudian dimasukkan kedalam oven. Untuk tabung reaksi yang mempunyai penutup disusun dalam dos kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 121°C (Rafika, 2018).

c) Penimbangan sampel

Pada proses penimbangan sampel ini pertama dilakukan yaitu siapkan alat dan bahan seperti alat berupa timbangan analitik, gunting, pinset, bag stomacher, talenan, baskom dan spidol, sedangkan bahan berupa daging ayam. Setelah semua alat dan bahan sudah siap kemudian daging ayam ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan kedalam bag stomacher yang sudah ditulisi nomor sampel (Rafika, 2018).

2) Tahap Pelaksanaan

a. Identifikasi Bakteri Penghasil ESBL

Pengambilan sampel ayam broiler dilakukan sesuai dengan metode yang rutin dilakukan oleh beberapa peneliti (Arslan dan Eyi, 2011; Nadinedkk., 2012; Stuartdkk., 2012; Tekiner dan zpmar, 2016) dengan beberapa modifikasi (Mu'arofah et al. 2020).

1. Daging ayam broiler dipotong kecil menggunakan gunting steril dan dimasukkan ke dalam botol plastik steril, dengan berat daging 10gr

2. Daging ayam digiling menggunakan stamper steril kemudian ditambahkan 20 ml TSB (*Trypticase Soy Broth*) media.
3. Masukkan kedalam *vorteks* selama 3 menit sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam.
4. Selanjutnya diambil 50 ul dan ditanam tersebar ke seluruh permukaan *McConkey* media yang mengandung sefotaksim 2 ug/ml.
5. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
6. Koloni yang tumbuh diduga merupakan bakteri penghasil ESBL, diisolasi dan diuji dengan DDST dan identifikasi.

b. Phenotypic Double Disk Synergy Test (DDST)

Tahapan metode pemeriksaan *Phenotypic Double Disk Synergy Test* (DDST) yang dilakukan peneliti sebelumnya sebagai uji konfirmasi (Mu'arofah et al. 2020).

1. Suspensi bakteri diambil dari koloni yang tumbuh di *McConkey* yang mengandung sefotaksim 2 g/ml.
2. Masukkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml *Trypticase Soy Broth* (TSB), kekeruhan dikalibrasi dengan *McFarland* 0,5 standar.
3. Setelah itu dioleskan pada *Muller Hinton* hingga merata dan ditunggu selama 15 menit.
4. Antibiotik *Amoxycillin* (AML) ditempatkan tepat di tengah dan

Ceftazidime, Cefotaxime, Ceftriaxone ditempatkan dengan jarak 20 mm (antara titik tengah cakram dengan pusat cakram AMC).

5. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
6. Pengamatan pelebaran zona hambat pada cakram CRO, CAZ, dan CTX di sekeliling tepi cakram yang menghadap AML, terhadap cakram *Amoxicillin* (AML) yang diletakkan di tengah, menunjukkan produksi enzim ESBL.
7. Pelebaran zona hambat bervariasi dan disebut efek lubang kunci

D. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah *Enterobacteriaceae* penghasil enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamase*

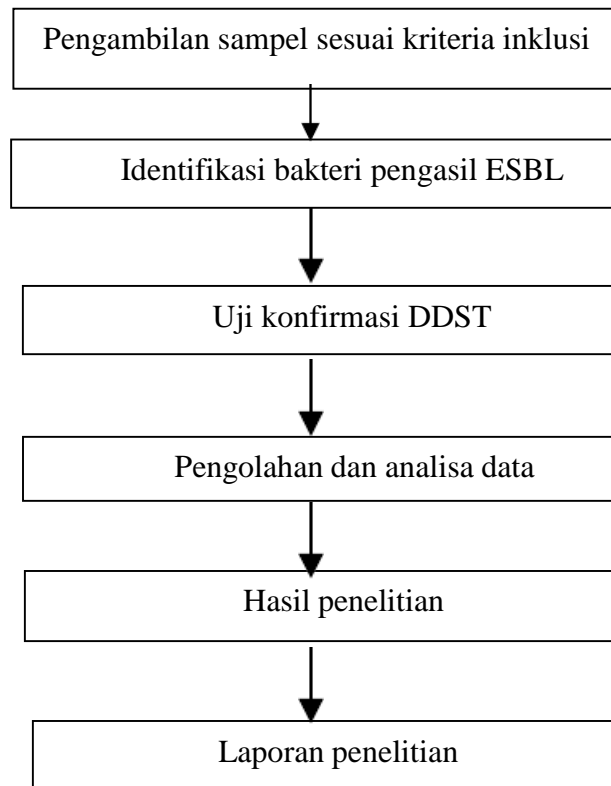
E. Definisi Operasional

Tabel IV.1 Definisi Operasional *Enterobacteriaceae* dan *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL)

No	Variabel	Definisi operasional	Kategori & kriteria	Alat ukur	Skala
1.	<i>Enterobacteriaceae</i>	Adalah famili gram negatif, bakteri <i>anaerobik fakultatif</i> berbentuk batang yang merupakan penyebab sebagian	1. Ada bakteri <i>Enterobacteriaceae</i> 2. Tidak ada bakteri	DDST	Nominal

		besar penyakit yang berasal dari makanan (Cianci <i>et al.</i> , 2019).	<i>Enterobacteriac</i> <i>eae</i>			
4	<i>Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)</i>	Enzim yang mempunyai kemampuan menghidrolisis golongan <i>cephalosporin</i> generasi satu, dua, dan tiga serta golongan <i>monobactam</i> dan menyebabkan resistensi ke seluruh antibiotika tersebut (Biutifasari 2018).	1. Ada ESBL 2. Tidak ada ESBL	Uji Biokima	Nominal	

F. Prosedur Penelitian



Gambar IV.1 Prosedur Penelitian *Enterobacteriaceae* Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) Pada Daging Ayam Broiler (*Gallus Domesticus*) Yang Dijual Di Pasar Daerah Surabaya Barat

G. Alat dan bahan

Tabel IV. 2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri & Konfirmasi ESBL

Bahan Habis pakai	Reagen
Sampling dari subjek penelitian	
1. Ayam Broiler	1. -
Identifikasi bakteri	
<ol style="list-style-type: none">1. Ose steril2. Agar Mac Conkey3. Media TSI4. Media Triptophan5. Media glukosa fosfat6. Media urea agar7. Medium sitrat agar8. Medium uji motilitas	<ol style="list-style-type: none">1. Cefotaxime 2 mg2. Reagen kovac untuk uji indol3. Larutan metil merah untuk uji MR4. Larutan alpha naftol 5% untuk uji VP5. KOH 40% untuk uji VP
Konfirmasi ESBL	
<ol style="list-style-type: none">1. Muller Hinton Agar2. Ose steril	<ol style="list-style-type: none">1. Cefotaksim 30 µg disk2. Ceftazidime 30 µg disk3. Ceftriaxone 30 µg disk4. Amoksisilin/ as. Klavulanat (30/10µg disk)5. Cefotaksim powder

H. Pengumpulan dan Pengolahan Data

1. Pengumpulan data

a. Prosedur pengumpulan data

Prosedur pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu dengan mengumpulkan data primer melalui observasi serta pencatatan pada lembar penelitian.

b. Jadwal waktu pengumpulan data

Tabel IV. 3 Jadwal Waktu Pengumpulan Data

No	Uraian Kegiatan	Tahun 2022				Tahun 2023			
		September	Oktober	November	Desember	Januari	Februari	Maret	April- Mei
1.	Kegiatan sosialisasi pelaksanaan skripsi								
2.	Pendaftaran skripsi								
3.	Pembuatan, ujian dan revisi proposal								
4.	Persetujuan Komisi Etik Penelitian FK UWKS								
5.	Pemrograman skripsi 2 pada KRS								
6.	Mulai Penelitian								
7.	Penyusunan skripsi hasil penelitian dan ujian skripsi								

2. Pengolahan data

1. *Editing*, yaitu mengkaji dan meneliti data yang telah terkumpul pada lembar observasi.
2. *Coding*, yaitu memberikan *code numerik* (angka) terhadap data yang terdiri dari beberapa kategori untuk memudahkan memasukan data ke program komputer.
3. *Saving*, yaitu menyimpan data sebelum data diolah atau dianalisis.
4. *Data entry*, data yang sudah diberi kode dimasukan dalam program aplikasi SPSS untuk melakukan tabulasi dan analisis.
5. *Cleaning*, yaitu pengetikan kembali data yang sudah dientri untuk mengetahui ada kesalahan atau tidak.
6. *Tabulating*, yaitu setelah data tersebut masuk program komputer kemudian direkap dan di susun dalam bentuk tabel supaya memudahkan dalam membaca data

I. Metode Analisis Data

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis univariat untuk mengetahui angka prevalensi bakteri penghasil ESBL pada daging yang dijual di pasar daerah Surabaya Barat.