

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Dalam penelitian ini, pendekatan deskriptif digunakan untuk mengidentifikasi *Candida albicans* pada ibu hamil di Puskesmas III Denpasar Utara. Metode kultur jamur, pewarnaan gram, dan metode *germ tube* digunakan untuk mengidentifikasi *Candida albicans*. Penelitian deskriptif digunakan untuk menganalisis data yang dikumpulkan dengan menggambarkan atau mendeskripsikan data sesuai dengan kondisinya (Sugiono, 2013).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Sampel diambil di Puskesmas III Denpasar Utara dan diuji di Laboratorium Parasitologi dan Mikologi STIKES Wira Medika Bali yang terletak di Jl. Kecak No. 9A, Tonja, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar, Bali.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian jamur *Candida albicans* pada urine ibu hamil dengan metode kultur jamur, pewarnaan gram, dan *germ tube* dilaksanakan pada bulan April - Mei tahun 2024.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini merupakan ibu hamil yang berkunjung ke Puskesmas III Denpasar Utara. Total responden adalah 200 orang berdasarkan data jumlah ibu hamil Puskesmas 3 Denpasar Utara.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah urine ibu hamil di Puskesmas III Denpasar Utara. Pada penelitian secara deskriptif jika jumlah populasi kurang dari 100 maka jumlah sampel diambil seluruhnya, jika jumlah sampel lebih dari 100 maka sampel yang digunakan sebanyak 10-15% atau 20-25% (Arikunto, 2013). Teknik *purposive sampling* digunakan ketika sampel yang diteliti memiliki karakteristik khusus yang tidak dimiliki oleh sampel lain yang tidak memenuhi karakteristik yang ditetapkan. Karakteristik ini tidak umum dimiliki oleh semua orang, sehingga hanya orang-orang yang memiliki karakteristik yang relevan dengan tujuan penelitian yang dipilih untuk diteliti (Mulyatiningsih, 2013). Ukuran sampel yang layak digunakan dalam penelitian sebanyak 30 sampai 500 sampel (Sugiono, 2013). Berdasarkan pernyataan tersebut maka sampel yang digunakan sebanyak 30 sampel, karena keterbatasan waktu, biaya serta tenaga.

Dalam penelitian ini, digunakan teknik *purposive sampling* untuk pengambilan sampel. *Purposive sampling* merupakan metode dimana sampel dipilih berdasarkan kriteria tertentu, yang terdiri dari kriteria inklusi dan eksklusi, yaitu:

a. Kriteria Inklusi

1. Pasien diidentifikasi sebagai ibu hamil di trimester I, trimester II, dan trimester III berdasarkan data rekam medis yang dikumpulkan dari bulan April hingga Mei.
2. Pasien menyatakan bersedia untuk mengikuti penelitian ini dan memberikan *inform consent*.

b. Kriteria Eksklusi

1. Ibu hamil trimester I, trimester II, dan trimester III dengan data rekam medik yang tidak lengkap dan tidak bersedia mengikuti penelitian ini.
2. Ibu hamil yang sedang mengonsumsi obat anti jamur (Miconazole, Bifonazole, dan lain-lain)

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mikroskop, *autoklaf*, *inkubator*, cawan petri, tabung *sentrifugasi*, *sentrifuge*, ose bulat, gelas beaker, rak pewarnaan, pot urine steril, erlenmeyer, dan lampu spiritus.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquades, *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), kristal violet, lugol, alcohol 96%, safranin, desinfektan, serum, *oil emersi* dan sampel urine ibu hamil.

3.5 Prosedur Pemeriksaan

3.5.1 Tahap Pra Analitik

Tahapan pra analitik meliputi persiapan responden, pengambilan sampel urine, penyimpanan dan pengiriman sampel urin, serta penyiapan media kultur jamur dan media *germ tube*. Proses pra analitik adalah sebagai berikut:

a. Persiapan Responden

1. Menyapa responden dengan ramah dan memperkenalkan diri kepada responden. Kemudian mempersilakan responden untuk duduk.

2. Memberikan informasi kepada responden terkait tindakan yang akan dilakukan dan meminta persetujuan melalui *informed consent*.
3. Memberikan lembar kuesioner kepada responden serta menjelaskan kepada responden terkait prosedur pengambilan sampel urin.
4. Memberikan wadah pot urine steril kepada responden untuk menampung urin (Putri, 2021).

b. Pengambilan Sampel Urine

1. Pasien mencuci tangan dengan air dan sabun.
2. Bersihkan area vulva dan labia secara bersamaan dengan air bersih kemudian keringkan.
3. Urine ditampung langsung ke dalam wadah sampel sebanyak ± 5 ml atau $\frac{3}{4}$ wadah kemudian tutup wadah sampel dengan rapat agar tidak mudah tumpah. (Hindari terkena air).
4. Bersihkan kembali daerah kelamin lalu cuci tangan menggunakan air dan sabun (Trisnawati et al., 2022).

c. Sterilisasi Alat dan Bahan

Setelah dibersihkan dan dikeringkan, alat kaca dibungkus dengan kertas, dimasukkan ke dalam plastik, dan diikat. Setelah itu, alat itu dibersihkan dalam *autoclave* selama lima belas menit pada suhu 121 derajat Celcius dan tekanan 1 atm (Maisari, 2020).

d. Pembuatan Media SDA

Setelah menimbang 35 gram bubuk SDA ke dalam erlenmeyer dan larutkan dengan 500 mililiter aquadest, tutup erlenmeyer dengan kapas dan kertas aluminium. Setelah media dibersihkan dalam *autoclave* pada suhu 121 derajat

Celcius selama 15 menit, masukkan media ke dalam cawan petri sebanyak 15-20 mililiter dan tunggu hingga memadat (Maisari, 2020).

e. Pembuatan Media *Germ Tube*

Simpan sampel darah secukupnya kemudian lakukan *sentrifugasi* selama 5-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm agar mendapatkan serum. Pisahkan serum dengan darah ke dalam tabung baru dan isi tabung sebanyak 0,5ml serum (Patricia *et al.*, 2022).

3.5.2 Tahap Analitik

Tahap analitik meliputi pemeriksaan kultur urin pada media SDA, pemeriksaan mikroskopis pewarnaan gram dan pemeriksaan *germ tube*.

a. Pemeriksaan Kultur Urine Pada Media SDA

Gunakan APD yang lengkap, tepat, dan akurat. Pastikan untuk menyiapkan peralatan dan bahan yang akan digunakan. Pastikan media SDA dan sampel urine berada pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Untuk menghindari kontaminasi, kocok urine perlahan dan ambil sampel dengan Ose standar 1 μl . Kemudian goreskan sampel pada media SDA. Setelah sampel sedikit kering, amati tekstur, permukaan, warna, dan bau koloni pada media SDA selama dua hingga tiga hari (Putri, 2021).

b. Pemeriksaan Mikroskopis (Pewarnaan Gram)

1. Cuci tangan dan gunakan APD dengan baik dan benar kemudian siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Gunakan ose bulat untuk meletakkan sediaan di atas objek glass. Kemudian, aduk secara melingkar di atas objek glass. Tunggu hingga kering, lalu fiksasi dengan api bunsen.

3. Lalu dilakukan pewarnaan gram
 - Tuangkan Kristal violet, dan diamkan selama 3 menit, lalu bilas dengan aquadest.
 - Tuangkan lugol dan diamkan selama 1 menit lalu bilas dengan aquadest.
 - Teteskan alkohol 96% selama 15 detik.
 - Tuangkan larutan safranin diamkan dan tunggu 3 menit, bilas dengan aquadest, biarkan kering.
4. Setelah itu baca sediaan di bawah mikroskop pembesaran 10x dan 100x dengan oil emersi.

Pemeriksaan ini dapat melihat bentuk jamur *Candida albicans*. Namun, mereka tidak dapat mengidentifikasi spesiesnya. Kelompok jamur dalam bentuk *blastospora*, hifa, dan *pseudohifa* ditunjukkan melalui pewarnaan gram (Putri, 2021).

c. Pemeriksaan *Germ Tube*

1. Persiapkan bahan dan alat yang akan digunakan. Masukkan serum ke dalam tabung sebanyak 0,5 mL. Kemudian, tambahkan koloni jamur *Candida albicans* dari media SDA. Inkubasi selama dua jam pada suhu 37 °C. Kemudian, buat preparat dari serum yang telah diinkubasi.
2. Selanjutnya, amati dengan mikroskop lensa 10× dan 40×. Bentuk bulat, lonjong seperti tabung yang memanjang sel jamur dapat dilihat.

3.5.3 Tahap Post Analitik

Interpretasi hasil jamur *Candida albicans* pada metode makroskopis kultur jamur media SDA jika positif yaitu munculnya koloni jamur dengan permukaan

yang halus, licin, berwarna putih kekuningan serta berbau ragi, pada metode mikroskopis dapat ditemukan bentuk struktur *Blastospora*, *klamidospora* dan *pseudohifa* serta didapatkan bentuk sel yang berkecambah seperti raket pada uji *germ tube* (Munawaroh, 2018).

3.6 Analisis Data

Data diolah untuk mengetahui apakah ada jamur *Candida albicans* dan kemudian dianalisis secara deskriptif. Hasilnya disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.