

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif, bertujuan untuk mengetahui gambaran jamur *Candida albicans* pada urin penderita Diabetes Melitus. Identifikasi dilakukan dengan tahapan kultur, pewarnaan Gram, serta uji *germ tube*. Penelitian ini digunakan untuk menganalisis data yang sudah terkumpul sebagaimana adanya dengan mendeskripsikan atau menggambarkan data tanpa adanya niatan dalam membuat kesimpulan yang berlaku secara umum maupun general (Sugiyono, 2013).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium RSUD Sanjiwani Gianyar dan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium parasitologi dan mikologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wira Medika Bali, Denpasar, Bali yang berada di Jl. Kecak No.9A, Tonja, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar, Bali.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan selama 2 bulan yaitu, dimulai dari bulan April - Mei Tahun 2024.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah seluruh pasien penderita Diabetes Melitus di RSUD Sanjiwani Gianyar. Total responden adalah sebanyak 156 pasien berdasarkan data dari laboratorium di RSUD Sanjiwani Gianyar pada bulan Oktober - Desember 2023.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu urine dari pasien penderita Diabetes Mellitus di RSUD Sanjiwani Gianyar. Penentuan jumlah sampel yang akan diambil berdasarkan jumlah sampel penelitian deskriptif yang dimana jika sampel kurang dari 100 maka, jumlah sampel yang diambil adalah secara keseluruhan, tetapi jika sampel lebih dari 100 maka diambil yang diambil sebanyak 10%-15% atau 20%-25% (Arikunto, 2013). Populasi dari penelitian ini sebanyak 156 sampel, sehingga dapat diambil sampel sekitar 20% dari total populasi. Jadi banyaknya sampel yang akan diambil nantinya, adalah:

$$\begin{aligned}\text{Sampel} &= \text{Jumlah populasi} \times 20\% \\ &= 156 \times 20\% \\ &= 31 \text{ orang}\end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan diatas, sampel yang diambil untuk penelitian ini yaitu sebanyak 31 orang. Yang dimana di dalam penelitian sampel yang layak digunakan sebanyak 30 sampai 500 sampel (Sugiyono, 2013).

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu teknik *purposive sampling*. Teknik *purposive sampling* yaitu teknik pengambilan sampel dengan mempertimbangkan kriteria tertentu, kriteria tersebut adalah kriteria inklusi dan kriteria eksklusi (Sugiyono, 2013). Yang dimana kriteria inklusi dan kriteria eksklusi dari penelitian ini yaitu:

1. Kriteria Inklusi

a. Bersedia mengikuti penelitian ini yang dinyatakan dalam *inform consent*.

b. Pasien yang berjenis kelamin perempuan

2. Kriteria Eksklusi

a. Pasien yang sedang hamil

b. Pasien yang sedang mengonsumsi obat-obatan

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: 1) timbangan digital, 2) cawan petri, 3) gelas ukur, 4) Erlenmeyer, 5) pipet tetes, 6) kompor, 7) incubator, 8) batang pengaduk, 9) ose bulat, 10) autoclave, 11) lampu spiritus, 12) beaker glass, 13) mikroskop, 14) botol semprot, 15) rak pewarnaan 16) timer, 17) tabung reaksi, 18) sentrifuge, 19) mikropipet, 20) rak tabung, 21) *objek glass*, 22) *cover glass*, 23) *yellow tip*, 24) pot urin steril, 25) kertas timbang, 26) plastik, 27) *aluminium foil*, 28) kapas dan 29) label (Trisnawati, 2022).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: 1) aquades, 2) *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), 3) Kristal violet, 4) lugol, 5) alkohol 96%, 6) safranin, 7) desinfektan, 8) alkohol 70%, 9) serum, dan 10) oil emersi dan 11) sampel urin pasien Diabetes Melitus (Trisnawati, 2022).

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Pra Analitik

Prosedur pada tahap pra analitik meliputi persiapan responden, penampungan sampel urine, penyimpanan, pengiriman sampel urin, pembuatan media kultur jamur dan media germ tube. Berikut ini merupakan proses dari pra analitik:

a. Persiapan Responden

1. Disapa responden dengan ramah dan memperkenalkan diri kepada responden
2. Dipersilahkan responden untuk duduk
3. Diberikan informasi kepada responden mengenai tindakan yang dilakukan dan meminta persetujuan melalui *inform consent*
4. Diberikan lembar kuesioner kepada responden
5. Diberikan penjelasan kepada responden terkait prosedur pengambilan sampel urin
6. Diberikan wadah pot urin steril kepada responden (Trisnawati, 2022)

b. Pengambilan Sampel Urin

1. Responden mencuci tangan dengan air mengalir dan sabun
2. Bersihkan area vulva dan labia dengan air kemudian keringkan
3. Ditampung urin kedalam pot urin sebanyak ± 5 ml, kemudian tutup pot urin dengan rapat
4. Bersihkan kembali area kelamin, lalu cuci tangan menggunakan air mengalir dan sabun (Wirawan, 2015)

c. Pengiriman dan Penyimpanan Sampel Urin

1. Sampel diberi identitas responden meliputi nama, usia, dan tanggal pengambilan sampel
2. Penyimpanan tidak boleh lebih dari 2 jam pada suhu ruang
3. Pengiriman sampel urin dengan waktu perjalanan kurang dari 2 jam dapat menggunakan *cool box*

d. Sterilisasi Alat dan Bahan

1. Diuci tangan dengan baik dan benar
2. Digunakan APD dengan baik dan benar
3. Dipastikan alat yang akan disterilkan seperti cawan petri, tabung reaksi, dan *yellow tip* dalam keadaan bersih dan kering
4. Kemudian bungkus cawan petri menggunakan kertas, untuk tabung raksi tutup dengan kapas, dan *yellow tip* dibungkus menggunakan aluminium foil
5. Dimasukkan cawan petri, tabung reaksi, dan *yellow tip* kedalam plastik dan diikat

6. Dipastikan *autoclave* sudah terisi dengan air sampai batas yang ditentukan, kemudian masukan alat dan bahan yang sudah dibungkus kedalam *autoclave* dan tutup rapat
7. Dilakukan sterilisasi selama 15 menit dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C
8. Setelah 15 menit, tunggu tekanan *autoclave* menurun, kemudian keluarkan alat dan bahan dan tunggu hingga dingin
9. Setelah dingin simpan alat dan bahan yang digunakan (Trisnawati, 2022)

e. Pembuatan Media SDA

1. Dicuci tangan dengan baik dan benar
2. Digunakan APD yang baik dan benar
3. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk pembuatan media
4. Ditimbang media SDA sebanyak 35 gram, kemudian pindahkan kedalam *erlenmeyer*
5. Disiapkan aquadest sebanyak 500 ml. Lalu masukkan aquadest kedalam *erlenmeyer* yang sudah berisi bubuk SDA
6. Kemudian, *erlenmeyer* ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Lalu sterilisasi menggunakan autoclave selama 15 menit dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C
7. Setelah 15 menit, tunggu tekanan pada *autoclave* menurun, lalu keluarkan media

8. Dituangkan media SDA kedalam cawan petri sebanyak 15 – 20 ml secara aseptis dan tunggu hingga media memadat
9. Disimpan media pada suhu 4-8°C

f. Pembuatan Media *Germ Tube*

1. Disimpan sampel darah secukupnya
2. Dilakukan *sentrifuge* darah selama 5 – 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk mendapatkan serum
3. Dipisahkan dan masukkan serum kedalam tabung yang baru
4. Diisi tabung dengan serum sebanyak 0,5 ml (Akbar, 2018)

3.5.2 Analitik

Prosedur pada tahap ini meliputi pemeriksaan kultur urin pada media SDA, pewarnaan Gram, dan pemeriksaan *germ tube*.

a. Pemeriksaan Kultur Urine

1. Dicuci tangan dengan baik dan benar
2. Digunakan APD dengan baik dan benar
3. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk pemeriksaan kultur urine
4. Dilakukan sterilisasi ruangan agar terhindar dari kontaminasi
5. Dihomogenkan sampel urine yang akan di kultur terlebih dahulu
6. Diambil 1 µl dengan menggunakan ose bulat. Lalu lakukan penanaman sampel pada media dengan cara di streaking (secara aseptis, agar terhindar dari kontaminasi)
7. Media diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C

8. Kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis pada media yang telah diinkubasi, dengan cara memperhatikan tekstur, permukaan, warna, dan bau dari koloni yang tumbuh.
9. Dilakukan pencatatan dan intepretasi hasil (Mutiawati, 2016)

b. Pewarnaan Gram

1. Dicuci tangan dengan baik dan benar
2. Digunakan APD dengan baik dan benar
3. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
4. *Objek glass* dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70%
5. Diambil aquadest dengan menggunakan ose bulat kemudian letakkan pada *objek glass* (lakukan secara aseptis)
6. Diambil koloni jamur dengan menggunakan ose bulat, kemudian homogenkan koloni jamur dengan mengusapkan secara melingkar pada *objek glass*, lalu tunggu hingga mongering (lakukan secara aseptis)
7. Dilakukan pengecatan Gram
 - Diteteskan larutan kristal violet sebanyak 2-3 tetes, kemudian diamkan selama 3 menit. Lalu bilas dengan menggunakan aquadest
 - Diteteskan larutan lugol, kemudian diamkan selama 1 menit. Lalu bilas dengan menggunakan aquadest
 - Diteteskan alkohol 96%, kemudian diamkan selama 15 menit. Lalu bilas dengan menggunakan aquadest

- Terakhir, ditetaskan larutan safranin atau karbol fuchsin kemudian diamkan selama 3 menit. Lalu bilas kembali dengan menggunakan aquadest
- 8. Dilakukan pengamatan pada mikroskop dengan perbesaran 10 kali dan 40 kali dengan menggunakan *oil imersi*
- 9. Kemudian dilakukan pencatatan hasil (Sujaya, 2016)

c. Pemeriksaan *Germ Tube*

1. Diambil satu ose koloni jamur *Candida* pada media SDA
2. Dimasukkan ke dalam tabung yang sudah berisi serum
3. Diinkubasi selama 1,5-2 jam pada suhu 37°C
4. Kemudian dilakukan pengamatan secara mikroskopis dengan perbesaran 10 kali dan 40 kali (Indrayati & Sari, 2018)

3.5.3 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* (U. Munawaroh, 2018)

3.6 Analisis Data dan Penyajian Data

Analisis data dilaksanakan dengan pengolahan data berupa ada atau tidaknya jamur *Candida albicans*, data kemudian dianalisis secara deskriptif guna membuktikan ada atau tidaknya jamur *Candida albicans* yang diperoleh

dari hasil pemeriksaan baik secara makroskopis ataupun mikroskopis. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.