

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif, yaitu bertujuan untuk memberikan gambaran tentang jamur *Candida albicans* dengan variabel yang diperiksa dan diamati yaitu urine penderita *Diabetes Mellitus* di RSUD Pringsewu.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi pengambilan sampel pada penelitian ini yaitu di Rumah Sakit Umum Daerah Pringsewu dan pemeriksaan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2022.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini yaitu pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang menjalani rawat jalan di RSUD Pringsewu pada bulan Juni tahun 2022. Sampel pada penelitian ini diambil dari populasi yaitu pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang menjalani rawat jalan di RSUD Pringsewu yang telah memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi yang telah ditetapkan, yaitu sebanyak 25 sampel. Teknik sampling yang digunakan adalah sampling jenuh yaitu, semua populasi pada penelitian ini digunakan sebagai sampel.

1. Kriteria Inklusi

- a. Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang menjalani rawat jalan di RSUD Pringsewu dan datang ke RSUD Pringsewu pada bulan tersebut.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak menjalani rawat jalan di RSUD Pringsewu dan tidak datang ke RSUD Pringsewu pada bulan tersebut.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Jamur <i>Candida albicans</i>	Jamur dengan ciri koloni yaitu bertekstur halus, berwarna putih kekuningan, berbau ragi, dan memiliki ciri mikroskopis yaitu berbentuk bulat, merupakan gram positif yang menyebabkan Kandidiasis pada penderita <i>Diabetes Mellitus</i> di RSUD Pringsewu.	Makroskopis dan Mikroskopis	Identifikasi dengan Penanaman pada media <i>Sabarouds Dextrose Agar</i> (SDA), dan mikroskopis dengan Pengecatan Gram, & Pengecatan <i>Germ-Tube</i>	(+) Positif <i>Candida albicans</i> (-) Negatif <i>Candida albicans</i>	Ordinal
Penderita <i>Diabetes Mellitus</i>	Pasien rawat jalan yang dinyatakan sebagai penderita DM pada rekam medik di RSUD Pringsewu	Diagnosa Dokter	Rekam Medik	(+) Penderita DM (-) Bukan penderita DM	Ordinal
Jenis Kelamin	Perbedaan biologis antara laki-laki dan perempuan yang dapat dilihat dari alat kelamin serta perbedaan genetic.	Catatan Rekam Medik	Rekam Medik	- Penderita <i>Diabetes Mellitus</i> berjenis kelamin pria - Penderita <i>Diabetes Mellitus</i> berjenis kelamin wanita	Nominal
Usia	Waktu yang terlewat sejak manusia dilahirkan. Usia produktif yaitu usia 15-64 th . Usia non-produktif yaitu usia <15 th dan >64 th .	Catatan Rekam Medik	Rekam Medik	- Penderita <i>Diabetes Mellitus</i> pada usia produktif (<64 th) - Penderita <i>Diabetes Mellitus</i> pada usia non-produktif (>64 th)	Numerik
Tipe DM	DM tipe 1 merupakan kondisi DM yang disebabkan karena	Diagnosa Dokter	Rekam Medik	- Penderita <i>Diabetes Mellitus</i> tipe 1	Ordinal

tidak produksi sama sekali. tipe 2 disebabkan karena tidak optimalnya system kerja insulin.	- Penderita <i>Diabetes Mellitus</i> tipe 2
--	---

E. Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan ialah data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan urine pasien DM di RSUD Pringsewu, dan data sekunder yaitu berupa karakteristik penderita DM. Prosedur pengumpulan data primer sebagai berikut :

1. Peneliti meminta surat pengantar dari Politeknik Kesehatan Tanjungkarang Jurusan Teknologi Laboratorium Medik.
2. Peneliti menghubungi staf diklat RSUD Pringsewu.
3. Setelah disetujui maka diberikan surat pengantar untuk pengambilan sampel pada pasien rawat jalan.
4. Peneliti menyiapkan botol tempat urine yang bersih, steril, bermulut lebar dan tertutup rapat.
5. Peneliti langsung memberikan botol tempat urine kepada pasien/wali pasien dan memberikan label identitas, serta menjelaskan cara pengambilan sampel urine sewaktu kepada pasien dan sampel dapat diambil setelahnya.
6. Peneliti meminta data pasien (jenis kelamin, usia, dan tipe DM) kepada petugas Laboratorium RSUD Pringsewu berdasarkan rekam medic.
7. Spesimen yang telah diambil kemudian dibawa menggunakan *coolbox* untuk dilakukan pemeriksaan jamur *Candida albicans* di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

a. Alat dan Bahan

1) Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah botol sampel steril, isolasi autoclave, erlenmeyer steril, objek glass, inkubator, cawan petri steril, cover glass, mikroskop, botol reagen pipet tetes, aluminium foil, neraca analitik, hot plate, pipet ukur, batang pengaduk, kapas alkohol, spuit, mikropipet.

2) Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media *Sabouraud Dextrose Agar*, penisilin, cat gram A, gram B, gram C, gram D, aquades steril, NaCl 0,85% dan minyak emersi.

b. Prosedur kerja

1) Sterilisasi Alat

Semua alat gelas yang akan dipakai seperti tabung reaksi dan cawan petri dicuci lalu dikeringkan masing-masing dibungkus dengan kertas kopi disterilkan dalam oven suhu 160°C selama 1 jam (Soemarno, 2000).

2) Pembuatan Media Perbenihan *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA)

Bahan yang digunakan :

Media SDA 40,3 gram, Aquades 620 ml

Cara pembuatan media SDA :

- a) Ditimbang SDA 40,3 gram.
- b) Dimasukkan semua bahan tersebut dalam 620 ml aquades sambil dipanaskan hingga larut.
- c) Ditambahkan kloramfenikol 500 mg dihomogenkan
- d) Disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm
- e) Didinginkan dalam *waterbath* selama 15 menit sehingga suhu berkisar 56°C
- f) Dituangkan media ke dalam cawan petri masing-masing 15 ml
- g) Media didinginkan hingga membeku

3) Uji Kualitas Media

Sehari sebelum melakukan penanaman spesimen pada media, media yang akan digunakan dimasukkan ke dalam inkubator selama 1 hari 24 jam. Dilihat media tersebut, jika tidak ada pertumbuhan mikroorganisme pada media tersebut, maka media tersebut layak untuk digunakan.

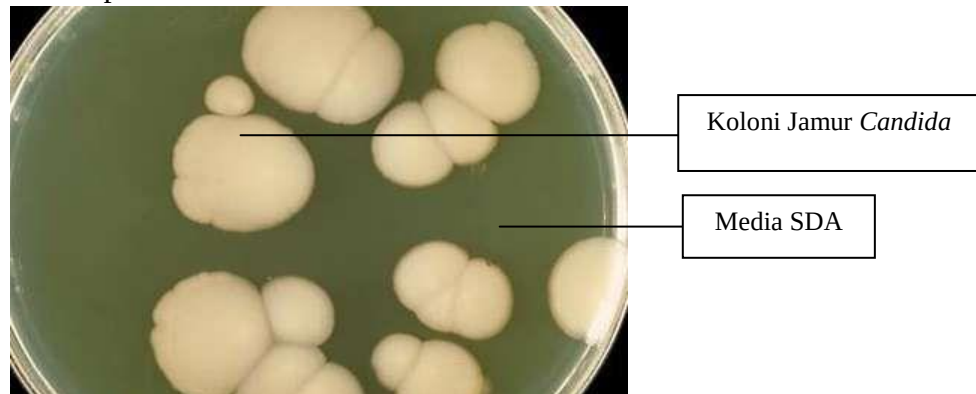
4) Pemeriksaan Makroskopis

Cara kerja :

- a) Diambil sampel urine menggunakan lidi kapas steril dan diusapkan pada permukaan media SDA

- b) Kemudian cawan petri diselotip untuk menjaga kelembaban dan diberi label
- c) Sampel diinkubasi 37°C selama 2 x 24 jam
- d) Diamati pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* secara makroskopis

Interpretasi hasil:



Sumber : lib.ui.ac.id

Gambar 3.1 Koloni *Candida albicans* pada media SDA

(+) *Candida* jika koloni berwarna putih kekuningan halus dan berbau seperti ragi

(-) *Candida* jika tidak ditemukan koloni berwarna putih kekuningan halus dan berbau seperti ragi

Jika hasil positif maka dilanjutkan ke pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan gram .

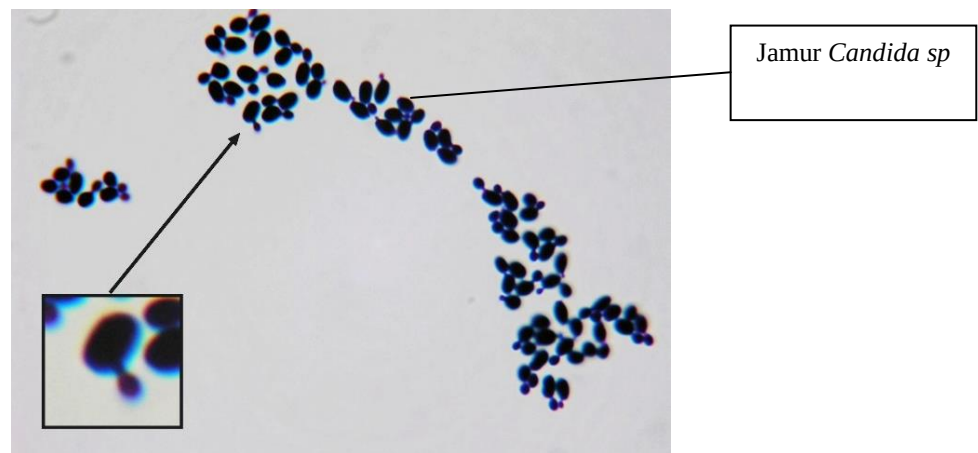
5) Pemeriksaan secara mikroskopis

Pengecatan gram dilakukan untuk mengetahui adanya jamur *Candida sp.*

Cara kerja :

- a) Digunakan ose steril diambil koloni dari media SDA kemudian diletakkan di tengah objek yang telah diberi NaCl 0,85%
- b) Ratakan dengan ose, lalu fiksasi dengan lampu spiritus
- c) Lalu dilakukan pengecatan gram
- d) Diletakkan objek glas di atas rak cat, kemudian teteskan satu tetes gram A pada objek glass, diamkan 1 menit lalu cuci dengan air mengalir

- e) Ditetaskan satu tetes gram B pada objek glass, diamkan 1 menit lalu cuci dengan air mengalir
- f) Ditetaskan satu tetes gram C pada objek glass, diamkan 30 detik lalu cuci dengan air mengalir
- g) Ditetaskan satu tetes gram D pada objek glass, diamkan 30 detik lalu cuci dengan air mengalir
- h) Objek glass yang telah dicat dikeringkan di udara dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Soemarno,2000)



Sumber : agilent.com

Gambar 3.2 Jamur *Candida sp* pada pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan gram

- (+) *Candida sp* jika sel berbentuk bulat, lonjong berwarna keunguan dan terdapat blastospora
- (-) *Candida sp* jika sel tidak berbentuk bulat, lonjong berwarna keunguan dan terdapat blastospora (Hardjono, 2007).

Jika didapatkan hasil positif pada pemeriksaan mikroskopis maka dilanjutkan ke uji spesifik *Germ tube* untuk menunjukan *Candida albicans* pada urine penderita *Diabetes Mellitus* di RSUD Pringsewu.

6) Pembuatan Media *Germ tube*

- a) Tabung diisi dengan putih telur/serum/plasma masing-masing sebanyak 1-2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 2 jam
- b) Keluarkan media dari inkubator, dan siap untuk digunakan

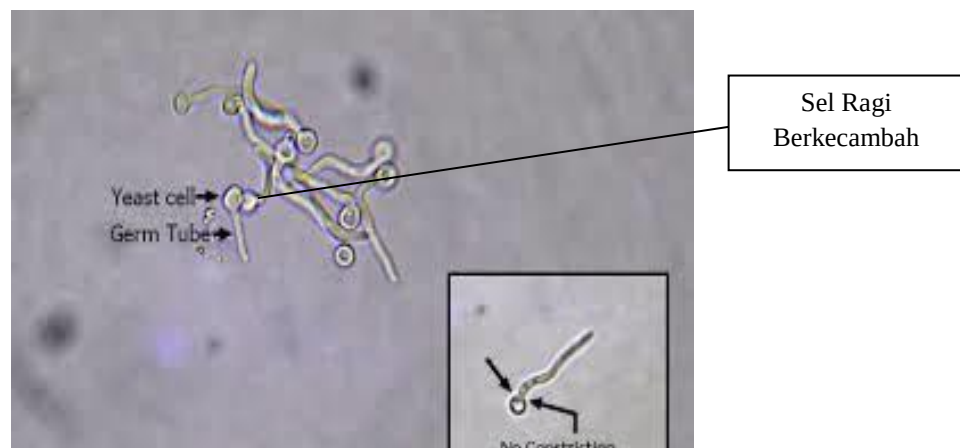
7) Pemeriksaan uji spesifik germ-tube *Candida albicans*

Bahan yang digunakan yaitu serum

Cara kerja:

- Tabung diisi dengan putih telur/serum/plasma sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2 jam
- Media dikeluarkan dari inkubator dan siap digunakan
- Koloni *Candida* diambil sedikit dengan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam media
- Hancurkan koloni *Candida* sampai koloni jamur terurai kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam
- Diteteskan 100 mikroliter media pada objek glass kemudian ditutup dengan cover glass diamati dengan perbesaran 40 x 10

Interpretasi hasil:



Sumber : onlinesciencenotes.com

Gambar 3.3 *Candida albicans* pada biakan *Germ tube*

(+) *Candida albicans* jika ditemukan sel ragi berkecambah

(-) *Candida albicans* jika tidak ditemukan sel ragi berkecambah

F. Pengolahan dan Analisis Data

Hasil pemeriksaan jamur *Candida albicans* pada urine penderita *Diabetes Melitus* di RSUD Pringsewu dilakukan dengan perhitungan persentase penderita *Diabetes Melitus* yang terinfeksi *Candida albicans* untuk menarik kesimpulan dan disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi. Untuk mengetahui

persentase penderita *Diabetes Mellitus* di RSUD Pringsewu yang positif *Candida albicans* menggunakan rumus yaitu :

1. Persentase penderita *Diabetes Mellitus* di RSUD Pringsewu yang urinenya terdapat jamur *Candida albicans* .

$$N = \frac{a}{b} \times 100 \%$$

Keterangan :

N : persentase penderita *Diabetes Mellitus* yang terinfeksi *Candida albicans*

a : jumlah sampel positif *Candida albicans*

b : jumlah sampel yang diperiksa

2. Persentase penderita *Diabetes Mellitus* di RSUD Pringsewu yang urinenya terdapat jamur *Candida albicans* berdasarkan jenis kelamin.

$$N = \frac{a}{b} \times 100 \%$$

Keterangan :

N : persentase penderita *Diabetes Mellitus* yang terinfeksi *Candida albicans*

a : jumlah sampel positif *Candida albicans* berdasarkan jenis kelamin

b : jumlah sampel positif *Candida albicans*

3. Persentase penderita *Diabetes Mellitus* yang urinenya terdapat jamur *Candida albicans* berdasarkan usia.

$$N = \frac{a}{b} \times 100 \%$$

Keterangan :

N : persentase penderita *Diabetes Mellitus* yang terinfeksi *Candida albicans*

a : jumlah sampel positif *Candida albicans* berdasarkan usia

b : jumlah sampel positif *Candida albicans*

4. Persentase penderita *Diabetes Mellitus* yang urinenya terdapat jamur *Candida albicans* berdasarkan tipe diabetes.

$$N = \frac{a}{b} \times 100 \%$$

Keterangan :

N : persentase penderita *Diabetes Mellitus* yang terinfeksi *Candida albicans*

a : jumlah sampel positif *Candida albicans* berdasarkan tipe diabetes

b : jumlah sampel positif *Candida albicans*