

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional analitik, dengan menggunakan desain penelitian *cross sectional*. Variabel terikat pada penelitian ini adalah *Candida albicans* dalam urin wanita penderita *Diabetes Mellitus* Tipe 2 dan variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar gula darah puasa, lamanya menderita, dan higienitas vagina *Diabetes Mellitus*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Lokasi pengambilan spesimen urin pada penelitian ini yaitu di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung dan pemeriksaan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada 19-30 April tahun 2024.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini yaitu pasien penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2 wanita yang menjalani rawat jalan di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung pada bulan April tahun 2024.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah 30 pasien wanita penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2 yang menjalani rawat jalan di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari seluruh populasi, dengan cara mengambil semua objek yang telah memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Kriteria inklusi dan eksklusi adalah sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* wanita yang menjalani rawat jalan di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung dan datang ke

Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung pada bulan tersebut.

- 2) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang melakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung.
- 3) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* wanita yang bersedia menjadi responden dan memiliki kondisi yang memungkinkan untuk dilakukan pengambilan spesimen urin.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak menjalani rawat jalan di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung dan tidak datang ke Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung pada bulan tersebut.
- 2) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* wanita yang tidak bersedia menjadi responden.
- 3) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang sedang hamil dan mendapat pengobatan antibiotik.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
<i>Candida albicans</i> pada penderita <i>Diabetes Mellitus Tipe 2</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 Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung.	Makroskopis dan Mikroskopis	Identifikasi dengan Penanaman pada media <i>Sabouraud 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
Kadar Gula Darah puasa	kadar gula darah puasa adalah kadar gula darah yang diukur pada saat seseorang tidak makan dan minum selama 8 jam terakhir.	Catatan rekam medik	Rekam Medik	1. Sedang: GDP <125 mg/dl 2. Buruk: GDP >125 mg/dl (Sumber : Perkeni,2021)	Ordinal
Lamanya Menderita	Lamanya waktu menderita <i>Diabetes Mellitus</i> Sampai sekarang	Catatan Rekam Medik	Rekam medik	1. <5 tahun 2. >5 tahun (Sumber: Bayu,2022)	Ordinal
Higienitas vagina	Perilaku Responden dalam menjaga higienitas vagina	Kuisisioner	Wawancara	Terdapat 2 kategori higienitas: 1. Baik, jika skor >21 2. Tidak Baik, jika skor <21 (sumber: Indriani,2018)	Ordinal

E. Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan ialah data primer dan data sekunder. Data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan urin pasien *Diabetes Mellitus* wanita di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung, dan data sekunder yang

diperoleh dari mencatat rekam medis penderita *Diabetes Mellitus* di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung. Prosedur pengumpulan data sebagai berikut :

1. Mengajukan surat izin penelitian dan pencatatan data pasien kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang yang selanjutnya diteruskan kepada Direktur Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung.
2. Setelah mendapat izin dari pihak Rumah Sakit, semua pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diberi penjelasan tentang penelitian yang akan dilakukan. Pasien yang bersedia mengikuti penelitian mengisi formulir persetujuan yang telah tersedia.
3. Kemudian peneliti mencatat data sekunder (kadar gula darah puasa dan lamanya menderita) pasien *Diabetes Mellitus* dari rekam medik.
4. Kemudian Peneliti melakukan wawancara untuk mendapatkan data higienitas vagina pasien penderita *Diabetes Mellitus* dan menyiapkan botol tempat urin yang bersih, steril, bermulut lebar dan tertutup rapat.
5. Peneliti langsung memberikan botol tempat urin kepada pasien/wali pasien dan memberikan label identitas, serta menjelaskan cara pengambilan sampel urin sewaktu kepada pasien lalu sampel dapat diambil dari pasien.
6. Spesimen yang telah diambil kemudian dibawa menggunakan *coolbox* untuk dilakukan pemeriksaan jamur *Candida albicans* di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes 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*, kloramfenikol, 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 Larutan Kloramfenikol

Kloramfenikol ditambahkan ke dalam media SDA berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Setiap 1000 ml *Sabouraud Dextrose Agar* memerlukan 400 mg kloramfenikol. Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,85% maka untuk 400 mg diperlukan NaCl 0,85% : $400mg / 250 mg \times 10 ml = 16 ml$ (Soemarno, 2000).

3) Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* Sebanyak 39 gram *Sabouraud Dextrose Agar* bubuk ditambahkan dengan 600 ml aquades, diaduk dan dipanaskan diatas hotplate. Diukur Ph 5,5. Lalu media disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Setelah proses sterilisasi selesai, media SDA didinginkan sampai suhu 45°C, kemudian ditambahkan kloramfenikol. Setelah itu media dituang ke dalam plate yang telah disterilkan sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat.

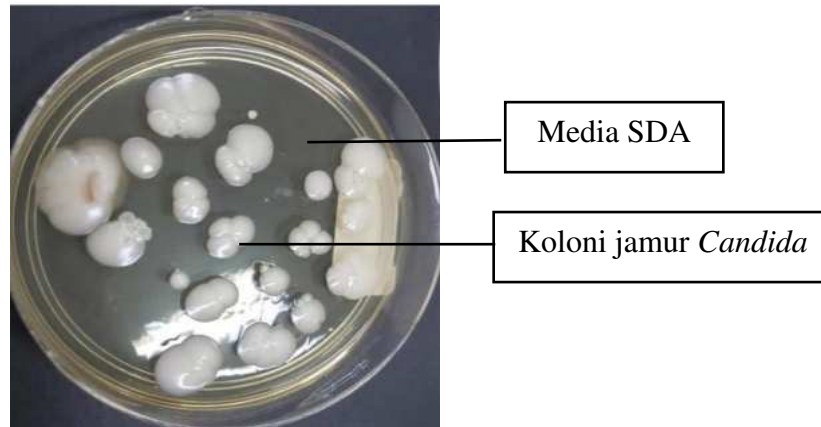
Media yang telah selesai dibuat, diambil beberapa plate kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C. Apabila ada pertumbuhan 2 koloni saja per plate itu dianggap tidak steril (Soemarno, 2000).

4). Pemeriksaan Makroskopis

Cara kerja :

- a) Buka tutup cawan petri media *Sabouroud Dextrose Agar*.
- b) Masukkan sampel sebanyak 1 ml menggunakan pipet ukur ke dalam media.
- c) Tutup kembali media *Sabouroud Dextrose Agar* dan segel menggunakan selotip agar tidak kontaminasi.
- d) Inkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam.
- e) Mengamati pertumbuhan pada media (Hardjoeno,dkk, 2007).

Interpretasi hasil:



Sumber : Surja, Sem Samuel. 2019

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.

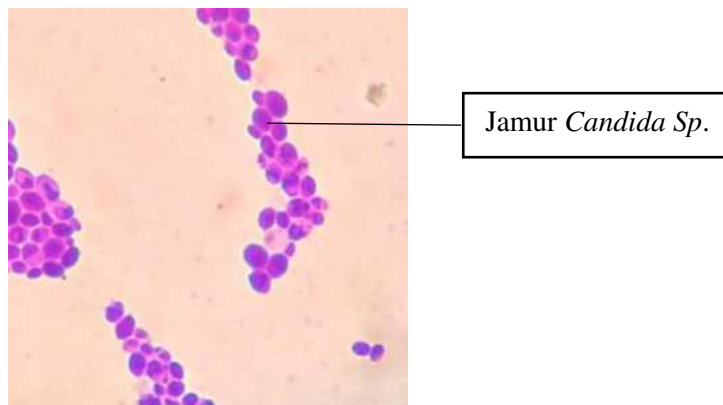
5). Pemeriksaan secara mikroskopis

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 gelas 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 : Indrayati, 2018

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

Jika didapatkan hasil positif pada pemeriksaan mikroskopis maka dilanjutkan ke uji spesifik *Germ tube* untuk menunjukkan *Candida albicans* pada urin penderita *Diabetes Mellitus* di Rumah Sakit Pertamina Bintang Amin Bandar Lampung.

- 6). Pembuatan Media *Germ tube*
 - a) Tabung diisi dengan putih telur/serum/plasma masing-masing sebanyak 1 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*

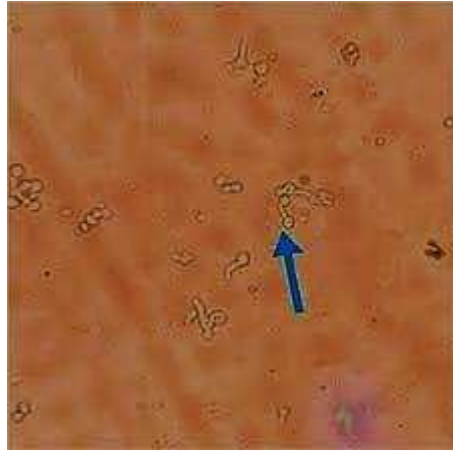
Bahan yang digunakan yaitu putih telur Cara kerja:

 - a) Media dikeluarkan dari inkubator dan siap digunakan
 - b) Sebelum dan sesudah penanaman bagian mulut dipanaskan dengan api bunsen terlebih dahulu.
 - c) Sampel diambil dari koloni pada media SDA menggunakan ose, kemudian masukkan kedalam media Germ Tube Test, diaduk sampai

homogen lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 2,5 jam.

- d) Kemudian media GTT di keluarkan dari inkubator, dan amati di bawah mikroskop (Hardjoeno, 2007)

Interpretasi hasil:



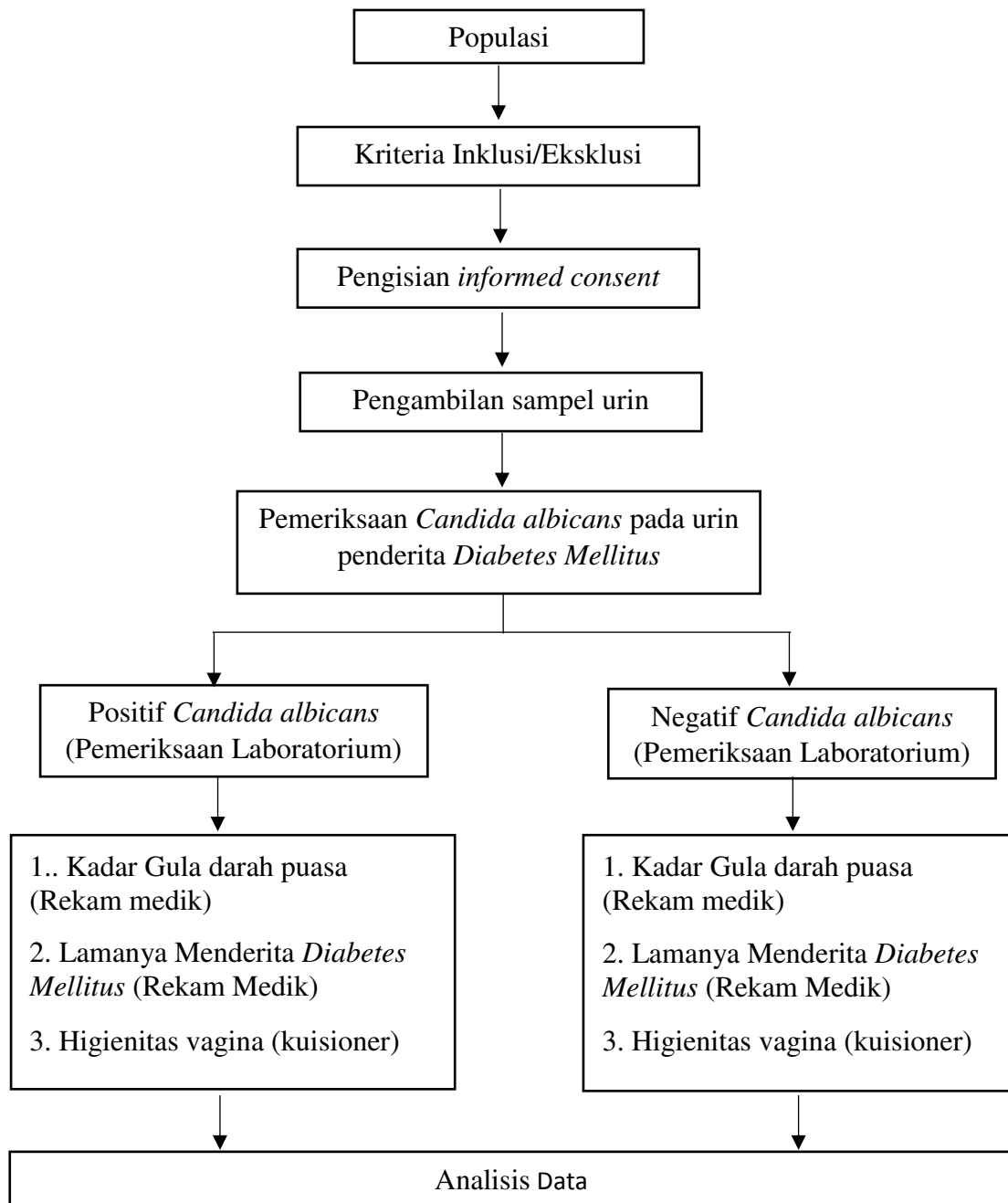
Sumber : Ayu, 2023

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

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

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

c. Alur Penelitian



F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis Univariat

Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Analisa data yang univariat pada umumnya hanya menghasilkan distribusi frekuensi dan persentase dari setiap variabel penelitian yaitu *Candida albicans* dalam urin wanita penderita *Diabetes Mellitus*

tipe 2 berdasarkan kadar gula darah puasa, lamanya menderita, dan higienitas vagina. Pengolahan data dilakukan secara komputerisasi.

2. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan terhadap dua variabel yang bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar gula darah puasa, lamanya menderita, dan higienitas vagina dengan *Candida albicans* dalam urin wanita penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2 dengan menggunakan uji *Chi Square*. Berdasarkan hasil uji tersebut ditarik kesimpulan jika nilai $p < 0,05$ maka terdapat hubungan antara kadar gula darah puasa, lamanya menderita, dan higienitas vagina dengan *Candida albicans* dalam urin wanita penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2.

G. Ethical Clearance

Penelitian menggunakan manusia sebagai subjek sehingga perlu dilakukan proses yang dilakukan telah secara etik dengan menyerahkan naskah proposal diserahkan ke Komite Etik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya. Nomor layak etik pada penelitian ini adalah No. 213/KEPK-TJK/II/2024, pada tanggal 20 Februari 2024. Seluruh subyek penelitian akan diberikan penjelasan mengenai tujuan dan prosedur pengambilan urin saat penelitian dan diminta persetujuan dengan *informed consent* tertulis. Subyek berhak menolak untuk ikut serta tanpa konsekuensi apapun. Identitas subyek penelitian dirahasiakan. Penelitian ini tidak akan menimbulkan bahaya bagi lingkungan, limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini akan dikumpulkan dan dimusnahkan dalam penanganan limbah. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung oleh peneliti.