

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat observasional analitik, dengan menggunakan desain *cross sectional*. Variabel bebas yang digunakan adalah nilai positivitas glukosa pada urine penderita diabetes melitus dan variabel terikat yang digunakan adalah pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada urine penderita diabetes melitus.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Spesimen urine diambil dari Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung dan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Parasitologi/Mikologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada 19-28 Mei tahun 2025.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini yaitu penderita diabetes melitus yang melakukan pemeriksaan glukosa darah puasa di Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung pada 19-28 Mei tahun 2025.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini berjumlah 30, yang diambil dari populasi, dengan cara mengambil objek yang telah memenuhi kriteria seperti pada *Lampiran 3*.

Adapun kriteria yang digunakan yaitu :

- a. Penderita diabetes melitus yang melakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa dengan hasil ≥ 200 mg/dl di Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung.
- b. Penderita diabetes melitus yang bersedia menjadi responden penelitian dengan menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*) setelah diberikan penjelasan.

- c. Penderita diabetes melitus yang memungkinkan untuk dilakukan pengambilan sampel urine.
- d. Penderita diabetes melitus tidak sedang hamil atau dalam keadaan haid.
- e. Penderita diabetes melitus yang tidak sedang mengonsumsi obat antijamur dalam kurun waktu 48 jam terakhir.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala ukur
Nilai Positivitas Glukosa Urine	Nilai positivitas glukosa urine yaitu pemeriksaan yang dilakukan menggunakan urine penderita diabetes melitus di Puskesmas Simpung Kota Bandar Lampung yang memiliki kadar glukosa darah puasa ≥ 200 mg/dl.	Carik celup	Strip tes urine	(-) Negatif (+) Positif 1 (++) Positif 2 (+++) (++++) (sumbu: Kemalasari, 2022)	Ordinal
Pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i>	Tumbuhnya jamur pada media SDA dengan ciri makroskopis berwarna putih kekuningan dengan tekstur halus, berbau rasi. Ciri mikroskopis yaitu berbentuk bulat, berwarna ungu yang merupakan gram positif dan ditemukan sel rasi berkecambah pada pemeriksaan <i>Germ Tube Test</i> yang terdapat pada urine penderita diabetes melitus di Puskesmas Simpung Kota Bandar Lampung.	Makroskopis dan Mikroskopis	Makroskopis dengan penanaman jamur <i>Candida albicans</i> pada media <i>Sabouraud Dextrose Agar</i> (SDA), dan mikroskopis menggunakan pengecatan Gram dan <i>Germ-Tube Test</i>	(-) Negatif <i>Candida albicans</i> (+) Positif <i>Candida albicans</i>	Nominal

E. Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer dan sekunder. Data primer didapatkan dari hasil pemeriksaan urine penderita diabetes melitus di Puskesmas Simpung Kota Bandar Lampung, dan data sekunder didapatkan dari catatan rekam medis penderita diabetes melitus di

Puskesmas Simpur Kota 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 Kepala Puskesmas Simpur Kota Bandar Lampung.
2. Setelah mendapatkan izin dari pihak Puskesmas, pasien yang melakukan pemeriksaan glukosa darah puasa dengan hasil ≥ 200 mg/dl diberikan penjelasan mengenai penelitian yang akan dilaksanakan. Pasien yang memenuhi kriteria dan bersedia menjadi subjek penelitian akan diarahkan untuk mengisi dan menandatangani formulir *informed consent* yang telah disediakan.
3. Selanjutnya peneliti mencatat data sekunder (kadar glukosa darah puasa) penderita diabetes melitus dan dicatat di tabel kriteria pada *lampiran*.
4. Kemudian peneliti menyiapkan pot bersih, steril, bermulut lebar, bertutup ulir dan rapat sebagai tempat penampung urine.
5. Peneliti memberikan pot penampung urine tersebut kepada pasien/wali pasien dan menjelaskan cara pengambilan urine sewaktu kepada pasien, dengan menampung urine midstream (bagian tengah aliran urine).
6. Setelah itu spesimen diambil dari pasien lalu diberikan identitas.
7. Spesimen yang telah diambil tersebut kemudian langsung dilakukan pemeriksaan glukosa urine menggunakan strip tes urine :
 Prosedur pemeriksaan dilakukan dengan mencelupkan strip ke dalam urine selama 1–2 detik, kemudian dikeluarkan dan dibiarkan bereaksi selama 30 hingga 60 detik. Warna yang muncul pada indikator strip dibandingkan dengan skala warna standar yang tertera pada kemasan. Perubahan warna ini menunjukkan kadar glukosa yang terdapat dalam urine dan dikategorikan menjadi lima tingkat, yaitu:
 - a. Negatif (–): menandakan tidak adanya glukosa atau kadar sangat rendah, yaitu <15 mg/dL (sekitar 0%)
 - b. Positif 1 (+): menunjukkan kadar glukosa urine sekitar 250–500 mg/dL, atau sekitar 0,5–1%

- c. Positif 2 (++) : menunjukkan glukosa sekitar 500–750 mg/dL, atau 1–1,5%
 - d. Positif 3 (+++) : menunjukkan kadar 750–1000 mg/dL atau 2–3,5%
 - e. Positif 4 (++++): menunjukkan glukosa urine lebih dari 1000 mg/dL (>3,5%) (Wikipedia, 2024).
8. Setelah pemeriksaan glukosa urine, spesimen urine dibawa menggunakan wadah *coolbox* untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* di Laboratorium Parasitologi/Mikologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
- a. Alat dan Bahan
 - 1) Alat

Pot urine steril, isolasi, inkubator, cawan petri steril, cover glass, autoclave, Erlenmeyer steril, objek glass, mikroskop, pipet tetes, aluminium foil, ose, kertas kopi, tabung reaksi, neraca analitik, mikropipet, Tip biru, hot plate, kapas alkohol, pipet ukur, spuit, batang pengaduk, dan lampu spiritus.
 - 2) Bahan

Media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA), aquadest steril, antibiotik kloramfenikol, cat gram A, gram B, gram C, Gram D, NaCl 0,85%, NaOH 0,01, HCl 0,01, kertas pH indikator, minyak imersi, dan putih telur.
 - b. Prosedur kerja (*Lampiran 4*)
 - 1) Sterilisasi alat

Seluruh alat gelas yang ingin dipakai dibersihkan, dicuci, lalu dikeringkan, selanjutnya setiap alat dibalut menggunakan kertas kopi, disterilkan menggunakan oven selama 20 menit dengan suhu 180°C (Soemarno, 2000).
 - 2) Pembuatan larutan kloramfenikol

Penambahan larutan kloramfenikol ke dalam media SDA berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri kontaminan. Diperlukan 10 ml larutan kloramfenikol untuk setiap 1000 ml *Sabouroud Dextrose Agar*. Setiap 250 mg kloramfenikol bubuk kapsul

dilarutkan menggunakan 5 ml aquadest steril sehingga untuk melarutkan 500 mg kloramfenikol bubuk kapsul diperlukan 10 ml aquadest steril (Soemarno, 2000).

3) Pembuatan media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA)

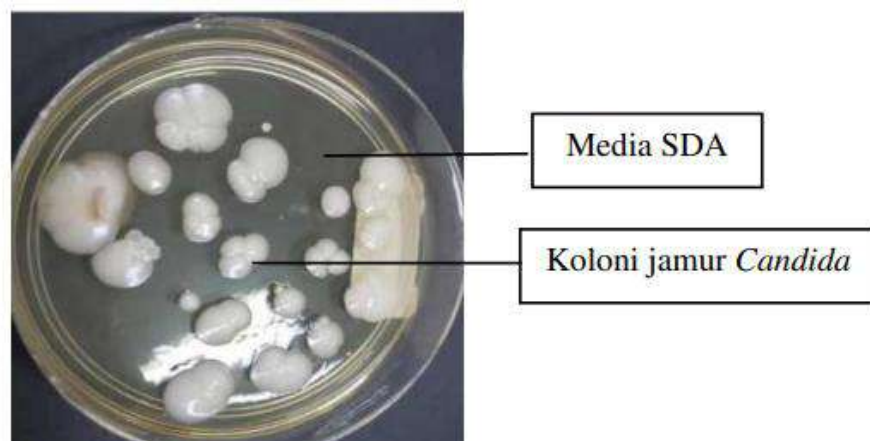
Untuk membuat 1000 ml media SDA diperlukan 65 gram *Sabouroud Dextrose Agar* bubuk ditambahkan dengan 1000 ml aquadest, dipanaskan di atas hotplate dan diaduk hingga larut. Diukur pH 5,5 (jika keadaan asam ditambah NaOH 0,01, jika keadaan basa ditambah HCl 0,01). Lalu media disterilkan menggunakan autoclave dengan waktu 15 menit di suhu 121°C bertekanan 1 atm. Setelah selesai proses sterilisasi, media SDA didinginkan sampai suhu 45°C, kemudian ditambahkan larutan kloramfenikol. Setelah itu media dituang ke masing-masing plate steril sebanyak 20 ml dan biarkan memadat. Disimpan media yang telah memadat pada suhu 4-8°C. (Diambil beberapa plate media yang sudah jadi, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C . Apabila tumbuh 2 koloni saja per plate maka media dianggap tidak steril) (Safitri dan Novel, 2010).

4) Pemeriksaan Makroskopis (kultur jamur)

Cara kerja :

- a) Dibuka tutup cawan petri media SDA
- b) Dimasukkan spesimen urine sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet ke dalam media, diratakan ke seluruh media.
- c) Ditutup kembali media SDA dan segel menggunakan selotip agar tidak terjadi kontaminasi.
- d) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.
- e) Diamati pertumbuhan jamur pada media SDA (Hardjoeno, et al., 2007)

Interpretasi hasil :



Sumber : Surja, Sem Samuel. 2019

Gambar 3. 1 Koloni *Candida albicans* pada media SDA

(+) Positif *Candida albicans* apabila ditemukan adanya koloni berwarna putih kekuningan, bertekstur halus lunak, dan aromanya seperti ragi.

(-) Negatif *Candida albicans* jika tidak ditemukan adanya koloni berwarna putih kekuningan, bertekstur halus lunak, dan aromanya seperti ragi.

(jika didapatkan hasil positif dari pengamatan makroskopis maka dilanjutkan ke pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan gram).

5) Pemeriksaan secara mikroskopis

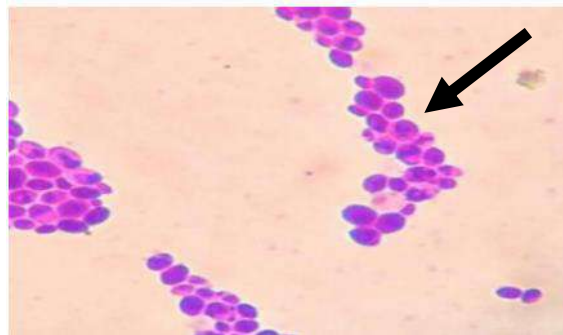
Pengecatan gram bertujuan untuk mengidentifikasi adanya jamur *Candida sp.*

Cara kerja :

- a) Diambil koloni yang tumbuh dari media SDA menggunakan ose steril kemudian diletakkan di tengah objek glass yang telah diberi NaCl 0,85%
- b) Diratakan dengan ose membentuk oval atau persegi, lalu difiksasi dengan melewati objek glass ke atas lampu spiritus
- c) Selanjutnya dilakukan pengecatan gram
- d) Diletakkan preparat di atas rak pengecatan, kemudian ditetaskan cat gram A pada preparat sampai seluruh sediaan tertutupi, diamkan selama 1 menit lalu aliri dengan air mengalir

- e) Ditetaskan cat gram B pada preparat sampai sediaan tertutupi, diamkan selama 1 menit lalu aliri dengan air mengalir
- f) Ditetaskan cat gram C pada preparat sampai sediaan tertutupi, diamkan selama 30 detik lalu aliri dengan air mengalir
- g) Ditetaskan cat gram D pada preparat sampai sediaan tertutupi, diamkan selama 30 detik lalu aliri dengan air mengalir
- h) Preparat yang telah dicat lalu dikeringkan di udara dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Soemarno, 2000)

Interpretasi hasil :



Sumber : Indrayati, 2018

Gambar 3. 2 Jamur *Candida* pada pewarnaan gram

(+) *Candida sp* jika sel berbentuk lonjong atau bulat, berwarna ungu dan terdapat blastospora.

(-) *Candida sp* jika sel tidak berbentuk lonjong atau bulat, tidak berwarna ungu dan tidak terdapat blastospora.

Jika didapatkan hasil positif pada pemeriksaan mikroskopis pengecatan gram, maka dilanjutkan ke uji spesifik *Germ tube* untuk memastikan jamur yang tumbuh yaitu jamur *Candida albicans*.

6) Pembuatan Media *Germ Tube Test*

- a) Tabung reaksi diisi sebanyak 1 ml putih telur, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam
- b) Dikeluarkan media dari inkubator, selanjutnya media siap untuk digunakan.

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

Cara kerja :

- a) Media dikeluarkan dari inkubator dan siap untuk digunakan
- b) Sebelum dan sesudah penanaman bagian mulut tabung dipanaskan dengan lampu spiritus terlebih dahulu
- c) Diambil koloni dari media SDA menggunakan ose, kemudian masukkan ke dalam media *Germ Tube Test*
- d) Dihomogenkan, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 2,5 jam.
- e) Kemudian media GTT dikeluarkan dari inkubator
- f) Dibuat preparat dari media GTT tersebut
- g) Diamati di bawah mikroskop (Hardjoeno, et al., 2007)

Interpretasi hasil :

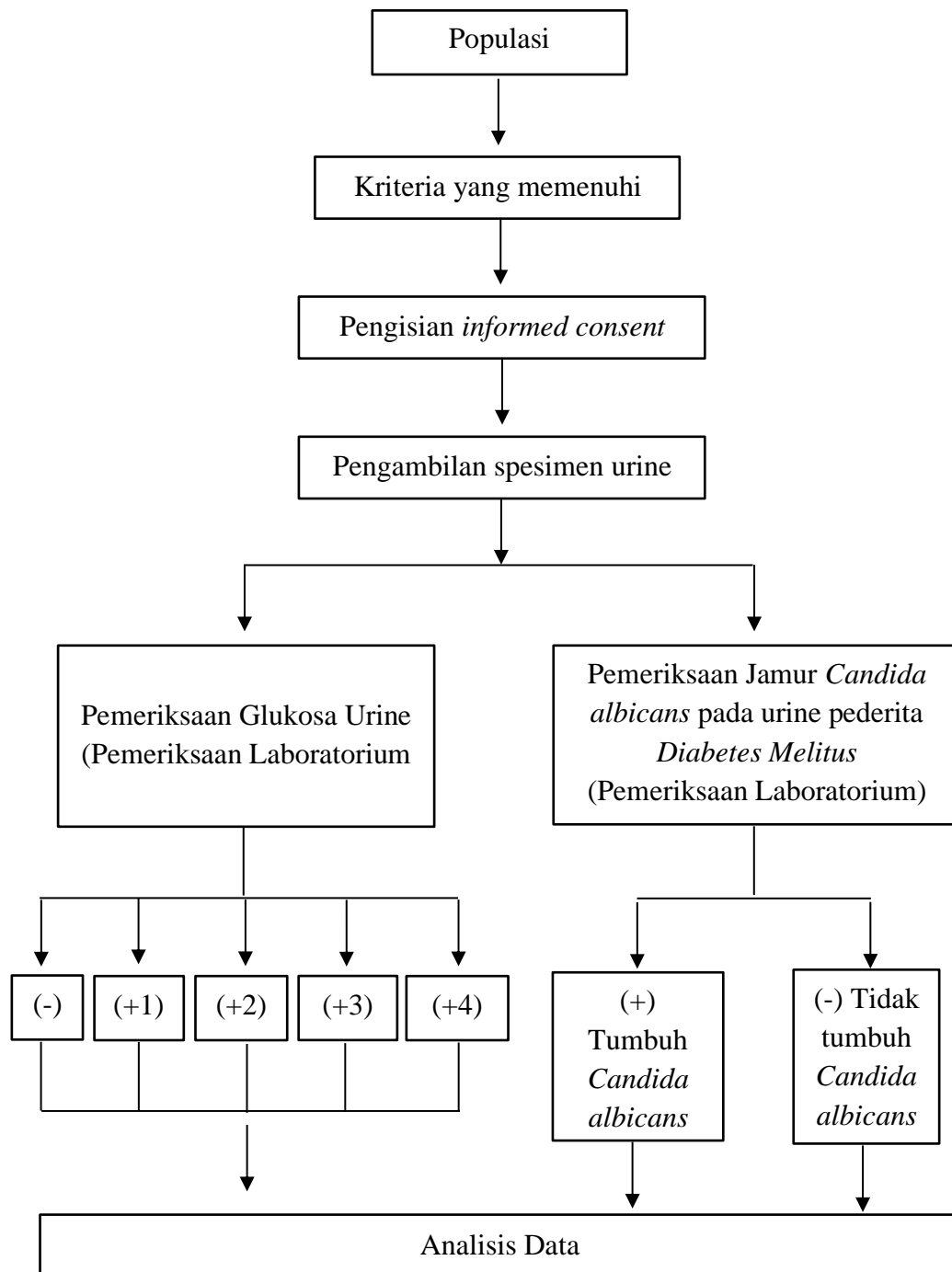


(+) *Candida albicans* jika ditemukan adanya sel ragi berkecambah

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

Sumber : Jan, 2018

Gambar 3. 3 Sel ragi berkecambah pada biakan *Germ Tube*

F. Alur Penelitian

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Pengolahan data menggunakan program komputerisasi dilakukan setelah diperoleh data dari hasil pemeriksaan laboratorium, dengan beberapa tahapan berikut ini :

- a. *Editing* : Penulis memeriksa data yang telah dimasukkan, untuk menghindari adanya kesalahan. Data yang dimasukkan yaitu data yang terdapat pada *Lampiran 6*.
- b. *Coding* : Penulis mengubah data yang awalnya berupa kalimat atau huruf menjadi data berupa bilangan atau angka.
- c. *Processing* : Data yang telah diubah menjadi kode selanjutnya diproses menggunakan program komputer.
- d. *Cleaning* : Penulis memeriksa ulang data yang sudah dimasukkan untuk memastikan kembali bahwa tidak ada kesalahan.

2. Analisis Data

a. Analisis Univariat

Analisis univariat dilakukan pada setiap variabel penelitian yang digunakan, bertujuan untuk melihat sebaran distribusi frekuensi dan persentasenya. Variabel penelitian meliputi hasil pemeriksaan glukosa urine, serta pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan terhadap dua variabel penelitian dengan tujuan mengetahui hubungan nilai positivitas glukosa dan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada urine penderita diabetes melitus, menggunakan uji *Chi Square*. Kesimpulan dari uji tersebut adalah jika nilai $p < 0.05$ maka akan dinyatakan ada hubungan nilai positivitas glukosa dan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada urine penderita diabetes melitus.

H. *Ethical Clearance* (Persetujuan Etik)

Penelitian ini menggunakan subjek manusia dengan spesimen urine sebagai sampel pemeriksaan. Maka dari itu naskah proposal harus diserahkan kepada Komite Etik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya. Nomor layak etik pada penelitian ini adalah No.212/KEPK-TJK/IV/2025, pada tanggal 28 April 2025. Seluruh subjek penelitian akan diberikan penjelasan mengenai tujuan penelitian, prosedur pengambilan urine, dan diberikan surat persetujuan menjadi responden penelitian tertulis (*informed consent*). Subjek dapat menyetujui ataupun menolak tanpa paksaan dari pihak manapun. Identitas subjek penelitian dirahasiakan. Penelitian ini tidak menimbulkan pencemaran atau bahaya yang merugikan bagi lingkungan, limbah hasil dari penelitian ini akan dikumpulkan, dipilah, dan dibuang pada tempat yang semestinya.