

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 kandidiasis oral pada penderita *Diabetes Mellitus* Tipe 2 dan variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar hemoglobin terglikasi (HbA1c) penderita *Diabetes Mellitus*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Lokasi pengambilan spesimen saliva pada penelitian ini yaitu di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung dan pemeriksaan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu

Pengambilan spesimen saliva penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2 dan pemeriksaan *Candida albicans* pada spesimen dilaksanakan pada bulan Mei tahun 2025.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini yaitu 165 penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2 yang mengikuti program Prolanis di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung, yang tercatat di rekam medis pada bulan Februari 2025.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah peserta prolanis *Diabetes Mellitus* tipe 2 yang melakukan pemeriksaan kadar HbA1c di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung pada bulan Februari 2025 sejumlah 165 orang. Pemeriksaan HbA1c diperiksa oleh petugas Puskesmas secara terjadwal setiap enam bulan sekali. Sampel diperoleh melalui teknik *purposive sampling* dari populasi yang ada. Jumlah sampel yang bersedia menjadi responden penelitian sebanyak 40 orang, sampel yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 34 orang. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi adalah sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang bersedia menjadi responden penelitian.
- 2) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang mengikuti program Prolanis dan melakukan pemeriksaan kadar HbA1c di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung pada bulan Februari 2025.
- 3) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak Merokok.
- 4) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak Menggunakan gigi palsu.
- 5) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak sedang hamil.
- 6) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak Melakukan terapi antibiotik dan pengobatan antijamur dalam waktu 48 jam terakhir.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang bersedia menjadi responden penelitian
- 2) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang tidak Mengikuti program Prolanis dan tidak melakukan pemeriksaan kadar HbA1c di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung pada bulan Februari 2025.
- 3) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang Merokok.
- 4) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang Menggunakan gigi palsu.
- 5) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang sedang hamil.
- 6) Pasien penderita *Diabetes Mellitus* yang Melakukan terapi antibiotik dan pengobatan antijamur dalam waktu 48 jam terakhir.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Variabel Penelitian dan Definisi Oprasional

No	Variabel penelitian	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala Ukur
1.	Variabel Terikat Kandidiasis oral	Infeksi jamur yang disebabkan oleh jamur <i>Candida albicans</i> yang merupakan Jamur dengan ciri koloni yaitu bertekstur halus, berwarna putih kekuningan, berbau ragi, dan memiliki ciri mikroskopis yaitu berbentuk bulat, merupakan gram positif dan dapat menyebabkan infeksi Kandidiasis	Makroskopis dan mikroskopis	Identifikasi menggunakan media SDA,dan mikroskopis dengan pengecatan gram dan germ tube	(+) Positif <i>Candida albicans</i> (-) Negatif <i>Candida albicans</i>	Nominal
2.	Variabel Bebas Kadar HbA1c	Hasil pemeriksaan darah yang menunjukkan kadar gula darah dalam tubuh selama (2-3 bulan terakhir) pemeriksaan kadar HbA1c dilakukan untuk mengukur persentase sel darah merah yang memiliki hemoglobin berlapis glukosa	Ceklis	Catatan Rekam Medik	Diabetes Terkontrol $\leq 7\%$ Diabetes Tidak Terkontrol $> 7\%$ (Sarihati et al., 2019)	Ordinal

E. Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekunder. Data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan saliva pada pasien penderita *Diabetes Mellitus* di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung. dan data sekunder yang diperoleh dari mencatat hasil rekam medis pemeriksaan kadar HbA1c penderita *Diabetes Mellitus* di Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung.

1. Tahap pengumpulan data

Data diperoleh melalui prosedur sebagai berikut:

- a. Melakukan penelusuran pustaka tentang pemeriksaan HbA1c dan kandidiasis oral untuk mendapatkan pemahaman ilmiah yang mendukung penelien ini.

- b. Melakukan kegiatan pra survei ke lokasi penelitian, yaitu Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung, guna mendapatkan gambaran kondisi penelitian secara langsung.
 - c. Mengajukan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjungkarang untuk kemudian diteruskan kepada Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu, selanjutnya diteruskan kepada Kepala Dinas Kesehatan Kota Bandar Lampung setelah itu ke Kepala Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Kota Bandar Lampung (Lampiran 1, Gambar 1-4).
 - d. Setelah mendapat izin dari pihak Puskesmas, semua pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diberikan penjelasan mengenai penelitian yang dilakukan. Pasien yang bersedia mengikuti penelitian selanjutnya mengisi formulir persetujuan yang telah disediakan (Lampiran 2).
 - e. Kemudian peneliti mencatat data sekunder (kadar HbA1c) *Diabetes Mellitus* dari rekam medik Puskesmas Rawat Inap Sukabumi Bandar Lampung (Lampiran 6).
 - f. Kemudian peneliti memberikan pot steril kepada pasien dan memberikan label identitas, serta menjelaskan cara pengambilan sampel saliva kepada pasien lalu sampel dapat diambil dari pasien.
 - g. Spesimen yang telah diambil selanjutnya dibawa menggunakan coolbox untuk dilakukan pemeriksaan jamur *Candida albicans* di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
2. Cara Pengumpulan Data
- a. Alat dan Bahan
 - 1) Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pot sampel steril, selotip, autoclave, erlenmeyer steril 1000 ml, beaker glass 500 ml, gelas ukur 100 ml, objek glass, inkubator, cawan petri steril, cover glass, mikroskop, botol reagen, pipet tetes, aluminium foil, neraca analitik, spatula, cawan arloji, hot plate, pipet ukur 5 ml, batang pengaduk, kapas alkohol, lampu spiritus, ose, tabung reaksi, korek api.

2) Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel saliva, media *Sabouraud Dextrose Agar* (Oxoid), 500 mg kloramfenikol, pewarnaan 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 digunakan pada penelitian seperti tabung reaksi dan cawan petri distrerilkan dengan cara dibungkus menggunakan kertas kopi kemudian dimasukan ke dalam oven pada suhu 160°C selama 1 jam (Soemarno, 2000) (Lampiran 4, Gambar 1).

2) Pembuatan Larutan Kloramfenikol

Larutan kloramfenikol ditambahkan ke dalam media SDA berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Setiap 1000 ml *Sabouraud Dextrose Agar* memerlukan 500 mg kloramfenikol. Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 5 ml aquadest steril maka untuk 500 mg kloramfenikol diperlukan aquades steril : $500 \text{ mg} / 250 \text{ mg} \times 5 = 10 \text{ ml}$ (Soemarno, 2000).

3) Pembuatan Media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*).

Sebanyak 65 gram media *Sabouraud Dextrose Agar* bubuk ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 1000 ml aquades. Larutan media tersebut diaduk dan dipanaskan di atas hotplate. Diukur Ph 5,5 Setelah itu, media disterilkan di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm. Setelah proses sterilisasi selesai, media SDA didinginkan hingga suhu 45-50°C, kemudian larutan kloramfenikol ditambahkan. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam plate steril sebanyak 15-20 ml per plate dan dibiarkan mengeras (Basarang, 2020). Media yang telah selesai dibuat selanjutnya diambil beberapa plate kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Apabila terdapat pertumbuhan 2 koloni per plate maka media dianggap tidak steril (Soemarno, 2000) (Lampiran 4, Gambar 2-6).

4) Pembuatan Nacl 0,85%

Sebanyak 0,85% gram Nacl kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquadest steril, kemudian larutan di homogenkan.

5) Pengambilan spesimen saliva

Pasien prolans diminta untuk berkumur dengan air lalu mengumpulkan salivanya dalam mulut, setelah terkumpul pasien diminta memasukkan saliva tersebut ke dalam pot steril yang telah disediakan oleh peneliti (Adella, 2021). Saliva segera diperiksa untuk menghindari terjadinya kontaminasi dan degradasi, waktu pengujian tidak lebih dari 2 jam pada suhu ruang (Duarte et al., 2020). Bagi pasien yang bersedia mengikuti penelitian tetapi tidak dapat hadir pada saat kegiatan prolans, informasi mengenai pengambilan sampel saliva disampaikan melalui WhatsApp. Pasien diminta untuk menyerahkan sampel saliva tersebut kepada peneliti pada hari berikutnya, dengan ketentuan bahwa sampel harus diterima oleh peneliti dalam waktu maksimal 2 jam setelah pengambilan (Lampiran 4, Gambar 8).

6) Pemeriksaan secara Makroskopis (inokulasi jamur)

Cara kerja:

- a) Tutup cawan petri yang berisi media *Sabouroud Dextrose Agar* dibuka.
- b) Sampel saliva diambil menggunakan ose steril.
- c) Sampel saliva diinokulasikan secara merata pada media SDA kemudian dimasukkan kedalam inkubator.
- d) Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dan koloni *Candida albicans* akan terlihat pada media (Jon & E.A.R.S, 2017).
- e) Pengamatan dilakukan untuk menilai pertumbuhan pada media

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan mengamati pertumbuhan biakan pada media SDA, yang dapat dilihat dari bau, warna, dan karakteristik permukaan koloni *Candida albicans*. Koloni yang terbentuk memiliki bau asam, warna putih kekuningan, dan permukaan yang basah serta cembung (Kristianingsih et al., 2023) (Lampiran 4, Gambar 11).

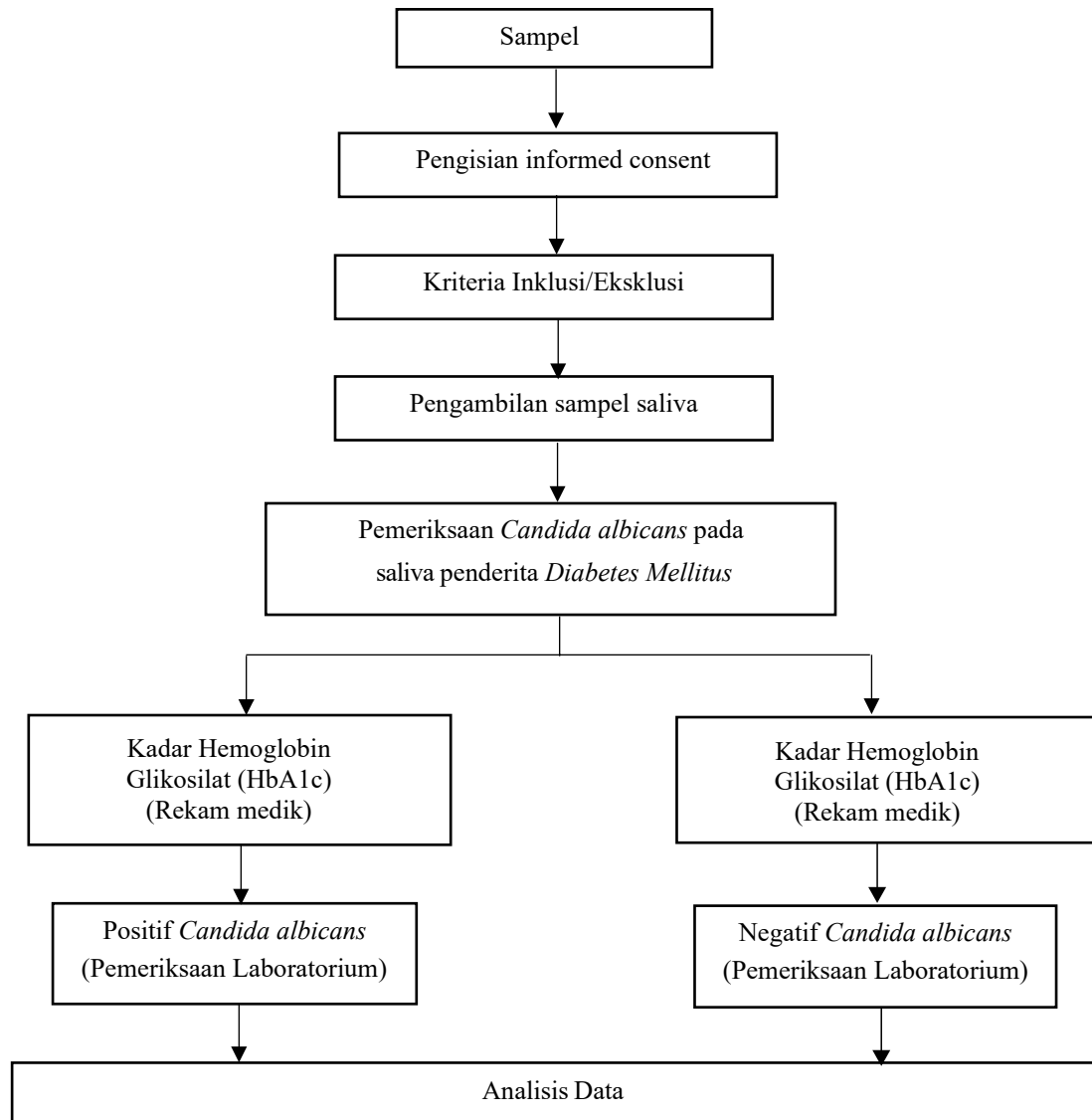
7) Pemeriksaan secara mikroskopis Pengecatan gram dilakukan untuk mengetahui adanya jamur *Candida sp.*

Cara kerja:

- a) Ose steril digunakan untuk mengambil 1 ose koloni pada media SDA kemudian koloni diletakkan di tengah objek yang telah diberi NaCl 0,85%.
 - b) Koloni diratakan dengan ose, kemudian dilakukan fiksasi menggunakan lampu spiritus
 - c) Pengecatan gram dilakukan setelah fiksasi.
 - d) Objek glass diletakkan di atas rak pengecatan, kemudian digenangi dengan Gram A selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir.
 - e) Objek glass digenangi dengan Gram B selama 1 menit kemudian dicuci menggunakan air mengalir.
 - f) Objek glass digenangi dengan Gram C selama 30 detik kemudian dicuci dengan air mengalir.
 - g) Objek glass digenangi dengan Gram D selama 30 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan mengering.
 - h) Objek glass yang telah selesai dicat dibiarkan mengering di udara kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.
 Hasil: Pewarnaan Gram pada *Candida albicans* akan menunjukkan adanya blastospora, sel berbentuk oval, dan bersifat gram positif (Soemarno, 2000) (Lampiran 4, Gambar 12-14).
- 8) Pemeriksaan uji spesifik tabung kecambah (*Germ Tube*)
- a) 1 ose koloni *Candida albicans* diambil pada media SDA.
 - b) Koloni *Candida albicans* dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 1 ml putih telur.
 - c) Tabung reaksi dikocok perlahan hingga koloni tercampur.
 - d) Tabung ditutup menggunakan dengan kapas dan diinkubasi selama 2- 3 jam pada suhu 37°C.
 - e) Setelah diinkubasi suspensi diambil sebanyak 1 ose.
 - f) Suspensi diletakkan di atas objek glass dan ditutup dengan cover glass.
 - g) Suspensi diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran objektif 100x dan selanjutnya dengan perbesaran 400x.

Hasil: uji germ tube pada *Candida albicans* akan menunjukkan adanya blastospora atau sel ragi yang berbentuk seperti kecambah (Mulyati et al., 2019) (Lampiran 4, Gambar 15-16).

c. Alur Penelitian



F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengelolaan Data

Pengolahan data menggunakan program komputerisasi dilakukan setelah diperoleh data kadar HbA1c dan data dari hasil pemeriksaan laboratorium dengan beberapa tahapan yang dilakukan sebagai berikut:

- a. *Editing Data*, yaitu proses di mana peneliti memastikan bahwa data nama dan kadar HbA1c responden yang telah dikumpulkan jelas, konsisten, sesuai dan keterbacaan. Proses klarifikasi berkaitan dengan memberikan informasi tentang data yang telah dikumpulkan menimbulkan masalah konseptual atau teknis ketika peneliti menganalisis data (Lampiran 6, Tabel 1).
- b. *Coding*, yaitu proses mengubah data yang terdiri dari kalimat atau huruf menjadi angka atau bilangan disebut coding/pengkodean.

Dengan pengkodean sebagai berikut:

1) Kadar HbA1c

1 = Kadar HbA1c Tidak terkontrol

2 = Kadar HbA1c Terkontrol

2) Kejadian Kandidiasis Oral

1 = Positif Kandidiasis oral

2 = Negatif Kandidiasis oral

- c. *Processing Data*, yaitu proses transformasi data sehingga data yang dimasukkan sebelumnya dapat dianalisis ke dalam software.
- d. *Cleaning Data*, yaitu proses memeriksa kembali data yang dimasukkan sebelumnya untuk mengidentifikasi masalah atau kendala apa pun yang mungkin timbul saat memasukkan data.
- e. *Tabulating Data*

Tabulasi merupakan kegiatan menggambarkan jawaban responden dengan cara tertentu. Tabulasi juga dapat digunakan untuk menciptakan statistik deskriptif variabel-variabel yang diteliti atau yang variabel yang akan di tabulasi silang. Mengelompokkan data untuk menyesuaikan variabel yang diteliti guna memudahkan analisis data (Lampiran 6, Tabel 2).

2. Analisis Data

a. 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 kandidiasis oral pada penderita *Diabetes Mellitus* tipe 2 berdasarkan kadar hemoglobin glikosilat (HbA1c). Pengolahan data dilakukan secara komputerisasi.

a. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan terhadap dua variabel yang bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar hemoglobin glikosilat (HbA1c) terhadap prevalensi kejadian kandidiasis oral pada 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 hemoglobin glikosilat (HbA1c) dengan *Candida albicans* penyebab kandidiasis oral pada 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 pada penelitian ini adalah No.248/KEPK-TJK/V/2025, Pada tanggal 03 Mei 2025. Seluruh subyek penelitian diberikan penjelasan mengenai tujuan dan prosedur pengambilan sampel saliva 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 menimbulkan bahaya bagi lingkungan, limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini dikumpulkan dan dimusnahkan dalam penanganan limbah. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung oleh peneliti.