

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 urine pasien diabetes dan variabel bebas pada penelitian ini adalah usia dan kadar gula darah puasa.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

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

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan 29 mei – 29 Juni tahun 2025 di Rumah Sakit Bintang Amin Kota Bandar Lampung.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini yaitu penderita diabetes melitus yang menjalani rawat jalan di Rumah Sakit Bintang Amin Kota Bandar Lampung, sejumlah 133 pasien.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah penderita diabetes melitus yang menjalani rawat jalan pada 29 mei – 29 Juni di Rumah Sakit Bintang Amin Kota Bandar Lampung, yang telah memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi berjumlah 38 orang. Kriteria inklusi dan eksklusi adalah sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1). Pasien penderita diabetes melitus usia >45 yang menjalani rawat jalan di Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung.

- 2). Pasien diabetes melitus usia >45 yang melakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa di Rumah Sakit Bintang Amin Bandar Lampung.
- 3). Pasien penderita diabetes melitus usia >45 yang bersedia menjadi responden untuk dilakukan pengambilan spesimen urine.

b. Kriteria Eksklusi

- 1). Pasien penderita diabetes melitus usia >45 yang tidak bersedia menjadi responden.
- 2).. Pasien penderita diabetes melitus usia >45 yang sedang hamil dan mendapat pengobatan antibiotik.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil	Skala
1	Variabel Bebas					
	Usia	Usia pada pasien diabetes memiliki hubungan pada pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i>	Tabel observasi	wawancara	Usia >45 (sumber: Anwar & Jakaria, 2023)	Ordinal
2	Kadar gula darah puasa	adalah jumlah glukosa yang terukur dalam darah setelah seseorang tidak mengonsumsi makanan atau minuman (kecuali air putih) selama minimal 8 jam.	Catatan rekam medik	Rekam medik	Normal <100 mg/dl Pradiabetes 100- 125 mg/dl Diabetes >126 mg/dl (American Diabetes Association, 2021).	Ordinal
3	Variable terikat <i>Candida albicans</i>	jamur oportunistik secara alami hidup sebagai flora normal di tubuh manusia, terutama di mulut, saluran pencernaan, saluran kemih, dan area genital. Seperti penurunan sistem imun atau kadar gula darah yang tinggi.	Makroskopis dan mikroskopis	Identifikasi penanaman pada media <i>Sabouraud dextrose agar</i> (SDA) dan pengecatan dengangerm tube	(+) <i>Candida albicans</i> (-) <i>Candida albicans</i>	Nominal

E. Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan ialah data primer dan data sekunder. Data primer yang diperoleh dari hasil pemeriksaan urine pasien diabetes melitus di Rumah Sakit Bintang Amin Kota Bandar Lampung, dan data sekunder yang diperoleh dari mencatat rekam medis data kadar gula darah puasa pasien diabetes melitus.

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 Bintang Amin Kota Bandar Lampung.
2. Setelah mendapat izin dari pihak Rumah Sakit, semua pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diberi penjelasan tentang penelitian yang dilakukan selama 1 bulan. Pasien yang bersedia mengikuti penelitian berjumlah 38 orang mengisi formulir persetujuan yang telah tersedia.
3. Kemudian peneliti mencatat data skunder (kadar gula darah puasa) pada pasien diabetes melitus dari rekam medik.
4. Kemudian Peneliti melakukan wawancara untuk mendapatkan urine pasien diabetes melitus dan 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 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 pada penelitian ini adalah botol sampel steril, autoclave, Erlenmeyer 1000ml steril, objek glass, inkubator, cawan petri steril, cover glass, mikroskop, botol reagen pipet tetes, aluminium foil, neraca analitik, tissue, hot plate, pipet ukur 10 ml, batang pengaduk, kapas alkohol, spuit 1cc, mikropipet 500µl.

2). Bahan

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

b). Prosedur kerja

1) Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi menggunakan autoclave dan alat gelas yang akan dipakai dicuci lalu dikeringkan masing-masing dibungkus dengan kertas kopi disterilkan dalam oven suhu 121°C dengan waktu 15 menit (Riswanda, J 2022).

2). Pembuatan Larutan Kloramfenikol

Penambahan larutan kloramfenikol kedalam media SDA berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan. Diperlukan 10 ml larutan kloramfenikol untuk setiap 1000 ml *Sabouraud 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 *Sabouraud Dextrose Agar*

Sabouraud Dextrose Agar (SDA) bubuk ditimbang sebanyak 45,5 gram ditambahkan dengan 700 ml aquadest, diaduk dan dipanaskan diatas hotplate. 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 20 ml kedalam plate yang telah disterilkan 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 media *Sabouraud Dextrose Agar*.
- b. Masukkan sampel 1000 ul menggunakan mikro pipet ke dalam media.
- c. Tutup kembali media *Sabouraud Dextrose Agar* dan segel menggunakan selotip agar tidak kontaminasi.
- d. Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

e. Mengamati pertumbuhan pada media (Hardjoerno,dkk, 2007).

(+) *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*.

Cara kerja :

- a. Digunakan ose steril diambil koloni dari media SDA kemudian diletakkan ditengah 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 dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Soemarno,2000).

6). Pembuatan Media Germ tube

- a. tabung diisi dengan putih telur/serum/plasma masing-masing sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 2 jam
- b. keluarkan media dari inkubator dan siap untuk digunakan.

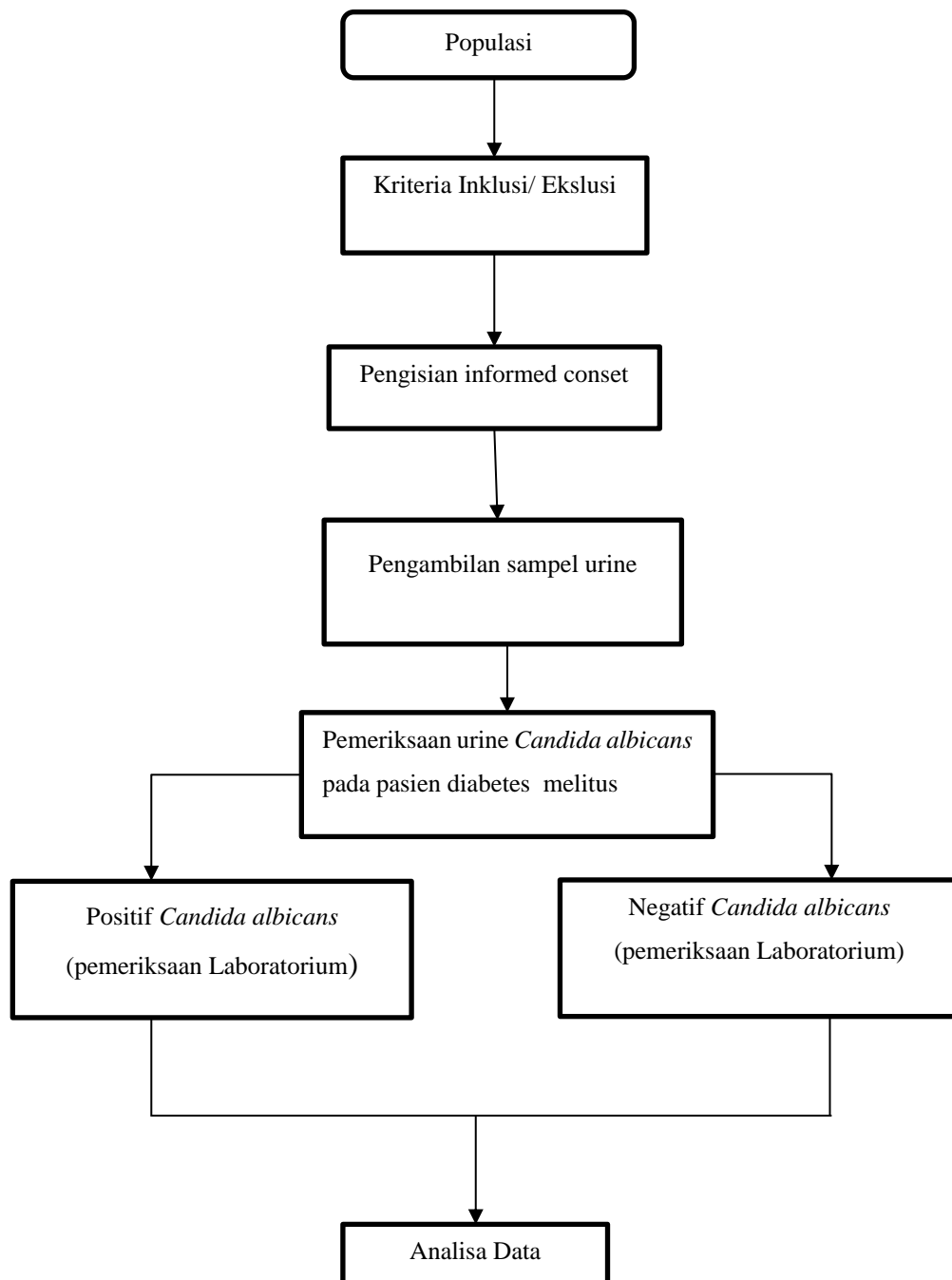
7). Pemeriksaan uji spesifik germ-tube *Candida albicans*

Bahan yang digunakan yaitu putih telur.

cara kerja:

- a) Media dikeluarkan dari incubator 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 germ tube dikeluarkan dari inkubator, dan amati dibawah mikroskop (hardjoeno,2007)
 - (+) *Candida albicans* jika ditemukan sel ragi berkecambah
 - (-) *Candida albicans* jika tidak ditemukan sel ragi berkecambah

c). Alur penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

F. Pengolahan dan Analisis Data

Analisa data yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Analisa data yang univariate pada umumnya hanya menghasilkan distribusi presentase dari setiap variable penelitian yaitu *Candida albicans* urine penderita diabetes melitus

2. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan dengan uji *Chi Square* (χ^2) untuk mengetahui hubungan yang signifikan antara masing-masing variabel bebas dengan variabel terikat. Dasar pengambilan hipotesis penelitian berdasarkan pada tingkat signifikan dengan derajat kepercayaan ($\alpha < 0.05$), hubungan dikatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. terhadap dua variabel yang bertujuan untuk mengetahui hubungan usia dan kadar gula darah terhadap jamur *Candida albicans* pada urine pasien diabetes melitus dengan menggunakan uji Chi Square. maka terdapat hubungan antara hubungan usia dan kadar gula darah puasa *Candida albicans* dalam urine penderita diabetes melitus.

G. Ethical Clearance

Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapatkan etik dari komisi etik poltekkes Kemenkes Tanjungkarang. Nomor layak etik pada penelitian ini adalah No.33/KEPK-TJK/V/2025, pada tanggal 22 Mei 2025. Seluruh subjek penelitian akan diberikan penjelasan mengenai tujuan penelitian, prosedur pengambilan urine, dan diberikan surat menjadi responden penelitian tertulis (informed consent). Dan segala jenis limbah dari penelitian ini, termasuk limbah urine pasien diabetes dan limbah sediaan preparat, dikumpulkan dengan prosedur penanganan limbah yang sesuai. Limbah dari urine dibuang ke kotak sampah infeksius/ limbah medis lalu limbah preparat dibuang ke kotak safety box