

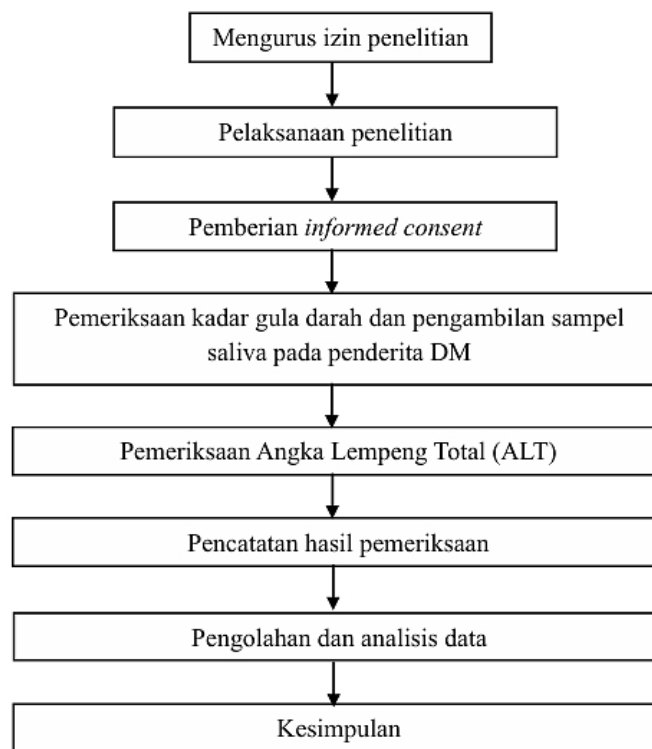
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Pengkajian ini menerapkan pendekatan korelasional dengan desain *cross-sectional*, yang bertujuan guna mengidentifikasi hubungan antara kadar glukosa darah serta jumlah bakteri dalam saliva pada penderita DM. Dalam kajian ini, variabel independen (bebas) serta variabel dependen (terikat) diukur serta diamati secara bersamaan dalam satu periode waktu (Jeklin, 2021).

B. Alur Penelitian



Gambar 3 Alur Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, peneliti mengurus permohonan surat izin penelitian dari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar yang dialamatkan pada Dinas Kesehatan Kota Denpasar untuk

memperoleh surat tembusan ke Puskesmas I Denpasar Timur. Setelah mendapat surat, selanjutnya peneliti melaksanakan pengamatan dengan mempersiapkan instrument pengamatan berupa *informed consent* (lembar persetujuan), kuesioner, serta *ethical clearance* yang akan diberikan serta diisi oleh responden. Semua informasi yang sudah responden berikan akan terjaga kerahasiaan data oleh peneliti, serta hanya informasi tertentu yang akan disajikan dalam hasil kajian ini sesuai dengan persetujuan yang telah diberikan. Peneliti memperkenalkan diri serta memaparkan tujuan perihal penelitian yang dilakukan oleh peneliti serta memberi penjelasan mengenai pengisian kuesioner serta *informed consent* pada responden jika bersedia untuk menjadi responden serta menjelaskan mengenai cara pengambilan sampel yang akan dipergunakan peneliti sebagai bahan pengamatan yakni dilakukan pengukuran kadar glukosa darah serta pengambilan sampel saliva pada responden dengan memberi pot (wadah) sampel untuk menampung saliva responden. Setelah proses pengumpulan data serta pengambilan sampel, langkah selanjutnya ialah melakukan pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT). Hasil pemeriksaan tersebut kemudian dicatat, diolah, serta dianalisis untuk memperoleh kesimpulan dari pengkajian yang telah dilaksanakan oleh peneliti.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Pengambilan Sampel serta Penelitian

Lokasi pengambilan sampel saliva pada penderita DM dilakukan di Puskesmas I Denpasar Timur, sementara pemeriksaan sampel dilaksanakan di UPTD. Balai Laboratorium Kesehatan Kerthi Bali Sadhajiwa Provinsi Bali.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai September 2024 hingga April 2025.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi ialah seluruh unit yang menjadi objek penelitian dalam sebuah studi. Pada studi ini, populasi yang diteliti ialah pasien DM yang menjalani pengobatan di Puskesmas I Denpasar Timur, dengan total populasi sejumlah 112 penderita DM yang tercatat dalam laporan tahun 2023.

2. Sampel

Sampel merujuk pada beberapa unit dari populasi yang diukur nilai atau ciri-cirinya, serta dipilih guna mewakili keseluruhan populasi tersebut. Dalam kajian ini, sampel yang dipergunakan ialah saliva dari penderita Diabetes melitus (DM) yang menjalani pengobatan di Puskesmas I Denpasar Timur, sesuai dengan kriteria inklusi serta sudah memberi persetujuan dengan menandatangani informed consent.

a. Unit Analisa

Unit analisis dalam penelitian ini mencakup kadar glukosa darah serta jumlah bakteri pada saliva penderita DM di UPTD. Puskesmas I Denpasar Timur.

b. Besar Sampel

Pada penelitian ini untuk menghitung total sampel memakai perhitungan dengan rumus *Slovin* dengan jumlah populasi diketahui berjumlah 112 pasien penderita DM. Untuk menentukan ukuran sampel dengan tingkat kesalahan sejumlah 15%, bisa dipergunakan rumus Slovin seperti dibawah:

$$n = \frac{N}{1 + N(e^2)}$$

Keterangan:

n = Ukuran sampel maupun jumlah responden

N = Ukuran populasi

e = Persentase kelonggaran ketelitian kesalahan pengambilan sampel yang masih bisa ditolerir. $e = 0,15$.

Sehingga untuk mengetahui total sampel penelitian dilakukan perhitungan seperti dibawah ini:

$$n = \frac{N}{1 + N(e^2)}$$

$$n = \frac{112}{1 + 112(0,15^2)}$$

$$n = \frac{112}{3,52}$$

$$n = 31,8$$

$$n = 32 \text{ sampel}$$

Sesuai dengan perhitungan yang didapatkan sebanyak 32 sampel.

c. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang diterapkan dalam kajian ini ialah *Accidental Sampling*, yakni metode pengambilan sampel yang dilakukan secara tanpa sengaja, di mana individu yang secara tidak disengaja bertemu dengan peneliti bisa dijadikan sampel, asalkan dianggap memenuhi kriteria sebagai sumber data yang relevan (Karimuddin et al., 2022). Dengan memakai kriteria:

1. Kriteria Inklusi

- a) Pasien penderita DM yang berobat di UPTD. Puskesmas 1 Denpasar Timur.
- b) Pasien penderita DM yang mampu berkomunikasi dengan baik serta bersedia ikut serta dalam penelitian ini dengan menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*) sebagai responden.
- c) Pasien penderita DM yang terkontrol selama 1 – 5 tahun.
- d) Pasien penderita DM dengan usia ≥ 30 tahun sampai 70 tahun (lansia).

- e) Pasien penderita DM berada dalam kondisi puasa maupun sebelum makan.

2. Kriteria Eksklusi

- a) Pasien penderita DM menolak maupun tidak bersedia untuk dilakukan pengambilan sampel maupun tidak bersedia menjadi responden dalam penelitian.
- b) Pasien penderita DM dalam kondisi sakit.

d. Alat, Bahan, serta Sampel

1. Alat

Alat yang dimanfaatkan pada studi ini termasuk alat POCT untuk mengukur kadar glukosa darah, alkohol swab, lanset, pot steril guna mengumpulkan saliva, objek kaca, lampu spiritus atau bunsen, ose, rak untuk mewarnai objek kaca, larutan natrium klorida 0,9%, penghitung koloni, minyak imersi, inkubator, sarung tangan, masker, korek api, alat tulis, kamera, serta kapas kering.

2. Bahan

Bahan yang dipergunakan pada studi ini mencakup media pertumbuhan bakteri yakni media PCA.

3. Sampel

Pada penelitian ini menggunakan sampel darah kapiler untuk mengukur kadar glukosa darah serta sampel saliva guna mengidentifikasi jumlah bakteri pada penderita DM.

e. Prosedur Kerja

1. Pra Analitik

a) Pengumpulan Data Responden

Peneliti memulai dengan memperkenalkan diri pada responden, termasuk nama lengkap serta asal institusi. Setelah itu, peneliti memaparkan tujuan serta prosedur pengamatan yang akan dilakukan. Apabila responden bersedia berpartisipasi, mereka harus menandatangani formulir persetujuan (*informed consent*). Kemudian, peneliti mengajukan pertanyaan yang ditemukan dalam lembar kuesioner serta mencatat jawaban responden.

b) Pemeriksaan Kadar Gula Darah Responden

- 1) Peneliti memulai dengan mendesinfeksi tangan memakai hand sanitizer, lalu mengenakan alat pelindung diri (APD) mencakup masker serta sarung tangan (handscoon).
- 2) Peneliti memastikan jika responden berada pada posisi yang aman serta nyaman.
- 3) Peneliti mempersiapkan alat serta bahan yang akan dipergunakan dalam pemeriksaan kadar gula darah serta pengambilan sampel saliva sambil dilakukan pengecekan tanggal kadaluarsa dari alat serta bahan yang akan dipergunakan.
- 4) Peneliti menyalakan alat POCT serta memasang strip pemeriksaan kadar gula darah, serta memasang lanset pada perangkat *auto click* serta mengatur kedalaman penetrasi jarum untuk pengambilan sampel darah kapiler.
- 5) Peneliti memilih lokasi penusukan dimana lokasi terbaik untuk pengambilan darah kapiler yakni di jari telunjuk, jari tengah, serta maupun jari manis.

Setelah itu peneliti melakukan desinfeksi dengan memakai *alcohol swab* 70% serta tunggu beberapa detik agar kering.

- 6) Peneliti melakukan pengambilan darah kapiler dengan cara menusuk ujung jari dengan memakai *auto click*, setelah itu tetesan darah pertama dibersihkan memakai kapas kering serta tetesan darah kedua diletakkan pada area reaksi strip untuk mengukur kadar glukosa darah.
- 7) Ujung jari yang sudah ditusuk, ditutup dengan memakai kapas kering sambil meminta responden untuk menekannya dengan bantuan ibu jari.
- 8) Tunggu hasil pemeriksaan kadar gula darah sampai hasilnya terlihat pada layar alat POCT, kemudian cabut strip dari alat POCT serta tutup ujung jarum lanset dengan penutup lanset pada *auto click* serta dibuang ke tempat sampah medis.
- 9) Peneliti melakukan pencatatan hasil pemeriksaan kadar gula darah responden serta dilanjutkan dengan pengambilan sampel saliva responden.

c) Pengambilan Sampel Saliva Responden

Setiap pasien DM yang mengunjungi UPTD. Puskesmas I Denpasar Timur selama periode penelitian, memenuhi kriteria inklusi, serta bersedia berpartisipasi dengan menandatangani formulir persetujuan (*informed consent*), akan dijadikan sampel untuk pengambilan saliva. Pengambilan sampel saliva dilakukan dengan cara peneliti meminta responden untuk berkumur-kumur terlebih dahulu dengan aquadest steril serta air kumuran dibuang, kemudian saliva responden dikumpulkan dengan cara menundukkan kepala serta membiarkan cairan tersebut mengalir secara alami kemudian dikumpulkan dalam pot steril dengan volume sejumlah 2 mL. Sampel saliva kemudian diberi identitas seperti kode sampel, nama, serta waktu pengambilan lalu sampel saliva dibawa memakai *cool box* ke UPTD. Balai

Laboratorium Kesehatan Kerthi Bali Sadhajiwa Provinsi Bali untuk dilanjutkan pemeriksaan secara makroskopis serta mikroskopis (Endriani et al., 2022).

2. Analitik

a) Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Sampel sejumlah 1 mL diambil serta dilarutkan dalam media pengencer NaCl 0,85% dengan perbandingan 1:9, menghasilkan pengenceran pada tingkat 10^{-1} . Larutan 10^{-1} dihomogenkan, lalu 1 mL diambil serta dilarutkan dalam tabung pengenceran kedua untuk memperoleh pengenceran pada tingkat 10^{-2} . Proses pengenceran dilanjutkan hingga mencapai tingkat 10^{-6} . Setelah proses pengenceran selesai dilakukan, sejumlah 0,1 mL dari masing-masing larutan pengenceran diambil serta diinokulasikan ke dalam media Nutrient Agar dengan memakai metode tuang (pour plate). Media tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah masa inkubasi, koloni yang terbentuk dihitung. Jumlah koloni yang bisa diterima untuk dianalisis per cawan petri berkisar antara 30 hingga 300 CFU (*colony forming unit*). Kriteria dalam perhitungan koloni ialah seperti berikut: satu koloni dianggap sebagai satu unit; dua koloni yang saling bertumpukan dihitung sebagai satu koloni; beberapa koloni yang saling menyatu juga dihitung sebagai satu koloni; sementara dua koloni yang berdekatan namun masih bisa dibedakan dihitung sebagai dua koloni. Koloni dengan ukuran melebihi setengah dari diameter cawan petri tidak diperhitungkan, sedangkan koloni yang ukurannya kurang dari setengah cawan petri dihitung sebagai satu. Total jumlah koloni dihitung dengan memakai rumus berikut:

$$\text{Jumlah koloni setiap cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

b) Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Gram

- 1) Gunakan spidol untuk menandai area pada object glass yang akan dipergunakan sebagai preparat.
- 2) Nyalakan api spiritus dengan korek api, lalu panaskan object glass di atas api untuk menghilangkan lemak yang menempel.
- 3) Sterilkan ose dengan membakarnya hingga menyala, lalu ambil 1 ose NaCl 0,9% serta teteskan pada object glass.
- 4) Sterilkan kembali ose dengan membakarnya hingga menyala, kemudian ambil sedikit koloni bakteri dari media NA memakai ose. Campurkan koloni tersebut dengan NaCl di object glass, ratakan membentuk oval maupun lingkaran, lalu biarkan hingga kering.
- 5) Bakar kembali ose hingga menyala serta tempatkan ose tersebut di rak.
- 6) Panaskan preparat di atas api sejumlah 2-3 kali untuk proses fiksasi.
- 7) Teteskan larutan *Carbol Gentian Violet* diatas sediaan yang sudah difiksasi serta biarkan selama 1 menit, lalu dibilas di bawah aliran air.
- 8) Teteskan larutan *Lugol* atau *Iodine*, biarkan selama 1 menit, kemudian bilas di bawah aliran air.
- 9) Tambahkan larutan alkohol 96%, diamkan selama 30 detik, kemudian bilas di bawah aliran air. Jika cat yang sebelumnya masih melekat ditambahkan *Alkohol 96%* lagi serta didiamkan selama 30 detik lagi untuk melunturkan cat sebelumnya.
- 10) Teteskan larutan *Safranin* maupun *Acid Fuchsin*, biarkan selama 30-60 detik, lalu bilas di bawah aliran air serta keringkan di udara.

c) Pengamatan di Mikroskop

- 1) Preparat yang telah dikeringkan diamati memakai mikroskop dengan pembesaran awal memakai lensa objektif 10x untuk mencari lapang pandang serta melihat distribusi bakteri.
- 2) Kemudian tetesi dengan 1 tetes *oil immersion* serta atur perbesaran lensa objektif yakni 100x untuk identifikasi bakteri berdasarkan sifat Gram negatif maupun Gram positif yang dilihat dari warna, bentuk, serta susunan.
- 3) Hasil pemeriksaan diamati memakai mikroskop. Jika bakteri terlihat berwarna ungu maupun biru tua setelah pewarnaan, maka bakteri tersebut tergolong Gram positif. Sebaliknya, jika bakteri berwarna merah ataupun pink, berarti bakteri tersebut termasuk Gram negatif.
- 4) Morfologi bakteri yang bisa teridentifikasi meliputi bentuk sferis (*coccus*), silindris memanjang (*basil*), spiral, atau bentuk peralihan seperti batang pendek (*coccobasil*).
- 5) Susunan bakteri yang mungkin teramati ialah berbentuk batang tunggal (*monobasil*), bergandengan dua-dua (*diplobasil*), bergandengan membentuk rantai memanjang (*streptobasil*), berbentuk bulat tunggal (*monococcus*), bergandengan dua-dua (*diplococcus*), berkelompok empat-empat (*tetracoccus*), bergandengan membentuk rantai (*streptococcus*), menggerombol seperti buah anggur (*staphylococcus*), serta berkelompok delapan-delapan seperti kubus (*sarsina*). Catat semua hasil pengamatan mikroskopis.

3. Pasca Analitik

Peneliti melakukan pencatatan hasil pemeriksaan jumlah bakteri yang didapat, serta untuk hasil pemeriksaan kadar gula darah akan dianalisis serta diklasifikasikan ke dalam kategori rendah, normal, atau tinggi.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data yang Dikumpulkan

a. Data Primer

Data primer pada kajian ini meliputi hasil pengukuran kadar glukosa darah saat puasa, identifikasi jumlah bakteri dalam saliva penderita DM, serta hasil kuesioner dari penderita DM di UPTD. Puskesmas I Denpasar Timur. Data tersebut diperoleh langsung oleh peneliti dari sumber utama.

b. Data Sekunder

Data sekunder dalam kajian ini didapat melalui catatan kesehatan pasien DM yang terdokumentasi di UPTD. Puskesmas I Denpasar Timur.

2. Teknik Pengumpulan Data

Informasi dalam kajian ini didapat melalui kuesioner yang diserahkan langsung kepada penderita DM di UPTD. Puskesmas I Denpasar Timur. Kuesioner tersebut mencakup informasi seperti nama, usia, jenis kelamin, lama menderita DM, riwayat keluarga, konsumsi obat-obatan, serta higienitas menggosok gigi. Sebelum berpartisipasi, responden diminta untuk menandatangani *informed consent* menjadi bentuk persetujuan mengikuti penelitian. Selanjutnya, responden diberikan pertanyaan yakni apakah responden sedang puasa maupun tidak serta maupun menanyakan apakah responden sudah makan maupun belum.

Jika sudah sesuai dengan kriteria inklusi maka dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah memakai alat POCT serta dilanjutkan dengan dilakukan pengambilan sampel saliva dengan cara pasien sebelumnya berkumur dengan akuades steril, kemudian saliva pasien diambil dengan menunduk, saliva dikeluarkan mengalir secara alami serta ditampung dalam pot steril, kemudian pot steril ditutup serta diberi kode identifikasi sampel, kemudian dibawa ke laboratorium guna dilakukan pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT).

3. Instrument Pengumpulan Data

Instrumen yang dimanfaatkan guna memperoleh data pada kajian ini ialah seperti dibawah ini:

- a. *Informed consent*, yang dipergunakan menjadi bukti serta sebuah lembar persetujuan dari pihak responden jika sudah bersedia berpartisipasi dalam penelitian tanpa adanya tekanan atau paksaan.
- b. Formulir kuesioner, dipergunakan sebagai instrumen guna menghimpun informasi dari responden.
- c. Alat tulis, dipergunakan untuk mencatat hasil kuesioner responden, hasil pengukuran glukosa darah puasa maupun sewaktu responden serta hasil pemeriksaan identifikasi jumlah serta jenis bakteri pada saliva responden berdasarkan pewarnaan gram.
- d. *Smartphone*, yang dipergunakan untuk mendokumentasi seluruh proses pengamatan.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik Pengolahan Data

Pada kajian ini ditujukan pada responden penderita DM di UPTD. Puskesmas 1 Denpasar Timur, dengan memberi *informed consent* serta kuesioner pada responden dengan kriteria inklusi serta eksklusi yang peneliti sudah tetapkan. Setelah peneliti memperoleh data yang sesuai, peneliti kemudian melakukan pengambilan sampel berupa saliva dengan memberi responden wadah (pot). Sampel serta data yang sudah didapatkan dilakukan pemberian kode agar tidak terjadi kesalahan dalam pengamatan. Kemudian setelah dilakukan pemeriksaan laboratorium data dikelompokkan kemudian data diolah pada SPSS serta dijelaskan secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabel serta diuraikan melalui penjabaran naratif.

2. Analisis Data

Analisis statistik yang diterapkan untuk mengevaluasi derajat keterkaitan antara konsentrasi glukosa darah serta jumlah bakteri dalam saliva pada individu dengan Diabetes Mellitus dilakukan melalui uji korelasi Pearson. Kemudian hipotesis diuji dengan membandingkan nilai signifikansi pada taraf 0,05.

G. Etika Penelitian

Dilansir dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2017), ada tiga jenis prinsip etika dalam sebuah pengamatan, yakni:

a. Menghormati harkat serta martabat manusia (*respect for persons*)

Menghormati setiap individu selaku entitas yang mempunyai hak untuk menentukan, berkehendak, serta bertanggung jawab atas keputusan mereka sendiri. Dalam kajian ini, responden diberikan pemaparan mengenai penelitian yang akan

dilakukan serta diminta persetujuan melalui informed consent sebagai tanda kesediaan mereka menjadi subjek pengamatan.

b. Berbuat baik serta tidak merugikan (*beneficence and non-maleficence*)

Berbuat kebaikan mencakup tanggung jawab untuk membantu sesama seoptimal mungkin serta mengurangi risiko kerugian. Sebelum penelitian dilakukan, peneliti memparkan manfaat penelitian serta keuntungan yang bisa diperoleh responden. Penelitian ini tak menimbulkan dampak besar maupun merugikan responden. Manfaat yang diperoleh responden dalam penelitian ini antara lain informasi perihal kadar glukosa darah dan jumlah bakteri pada salivanya.

c. Keadilan (*justice*)

Kaidah ini menegaskan kewajiban etis guna menyikapi setiap partisipan secara setara serta memastikan pemberian hak yang berlandaskan asas moral serta keadilan. Dalam kajian ini, peneliti menjamin jika seluruh responden menerima perlakuan yang konsisten selama tahap pengumpulan data, sehingga masing-masing memiliki kesempatan yang setara untuk berkontribusi. Di sisi lain, peneliti juga melindungi kerahasiaan identitas responden sepenuhnya.