

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian *deskriptif* yaitu penelitian dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan suatu kejadian atau fenomena yang terjadi dalam masyarakat. Dalam penelitian ini dilakukan dengan pendekatan *crosssectional*, artinya setiap subjek penelitian hanya diobservasi sekali dan pengukuran dilakukan terhadap status karakter atau variabel subjek pada saat pemeriksaan (Notoatmodjo, 2012).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Poliklinik Kebidanan dan Kandungan RSUD Mangusada Badung dan pemeriksaan ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Juni 2018.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1 Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua ibu hamil yang melakukan pemeriksaan di Poliklinik Kebidanan dan Kandungan RSUD Mangusada Badung.

2 Besar sampel penelitian

a. Kriteria sampel

Penentuan sampel dilakukan dengan menentukan kriteria inklusi dan eksklusi. Adapun kriteria inklusi dari sampel penelitian ini yaitu:

- 1) Ibu hamil bersedia untuk diikutkan dalam penelitian ini dengan menandatangani *inform concent*.
- 2) Ibu hamil sudah mengetahui umur kehamilan yaitu trisemester I, II, atau III.
- 3) Ibu hamil bersedia memberikan sampel urine pada saat melakukan pemeriksaan di Poliklinik Kebidanan dan Kandungan RSUD Mangusada Badung.

Sedangkan kriteria eksklusi dari sampel penelitian ini yaitu:

- 1) Ibu hamil membatalkan kesediannya untuk menjadi responden penelitian.
- 2) Responden sedang tidak ingin berkemih.

b. Jumlah dan besar sampel

Jumlah kunjungan populasi ibu hamil yang melakukan rawat jalan di Poliklinik Kebidanan dan Kandungan RSUD Mangusada Badung pada tahun 2017, yaitu sebesar 3560 pasien.

Menurut *Roscoe* dalam Sugiyono (2017) besar sampel yang layak yaitu 30 sampai dengan 500 sampel. Karena keterbatasan waktu dan biaya maka sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini sebesar 30 sampel dari populasi ibu hamil yang melakukan pemeriksaan di Poliklinik Kebidanan dan Kandungan RSUD Mangusada Badung.

c. Teknik pengambilan sampling

Dalam penelitian ini pengambilan sampel dengan teknik *non probability sampling* secara *purposive sampling*. Dimana teknik sampling ini dilakukan dengan pertimbangan peneliti sendiri, berdasarkan ciri-ciri atau sifat populasi yang sudah diketahui (Notoatmodjo, 2012).

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1 Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

- 1) Identitas ibu hamil.
- 2) Karakteristik responden meliputi kelompok umur, umur kehamilan, tingkat pendidikan, mengonsumsi antibiotik dan higienis perorangan.
- 3) Data hasil pemeriksaan mikrobiologi dari kultur sampel urine ibu hamil apakah terdapat jamur *Candida albicans* atau *Candida non-albicans*.

b. Data sekunder

Data sekunder yang akan dikumpulkan dalam penelitian ini yaitu data jumlah ibu hamil yang melakukan pemeriksaan ke RSUD Mangusada Badung

2 Cara pengumpulan data

a. Wawancara

Wawancara yang dilakukan yaitu dengan memberikan pertanyaan mengenai tingkat pendidikan, mengonsumsi antibiotik dan hygiene perorangan responden.

b. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium urine ibu hamil mengenai isolasi dan identifikasi jamur *Candida albicans*.

3 Instrument pengumpulan data

Intrumen yang digunakan untuk pengumpulan data yaitu:

- a. Informed consent
- b. Formulir wawancara
- c. Kamera untuk dokumentasi
- d. Alat tulis
- e. Alat untuk pemeriksaan laboratorium

E. Alat, Bahan, dan Prosedur

1. Alat

Pot urine steril (32 buah), neraca analitik (Radwag) (1 buah), Erlenmeyer (Iwaki-Pyrex®) 250 ml (3 buah), spatula (1 buah), gelas ukur (Iwaki-Pyrex®) 500 ml (1 buah), *magnetic* dan stirrer (Jisico) (1 buah), batang pengaduk (1 buah), *autoclave* (SX-500, TOMY) 1 buah, *petridish* steril (35 buah), indikator pH universal (10 buah), lampu spinitus (1 buah), *ball* pipet (d & n ball pipet) (1 buah), pipet ukur (Iwaki-Pyrex®) 20 ml(1 buah), pipet tetes (1 buah), micropipet 50-500 µl (Socorec) 1 buah, inkubator (T01892-Esco) 1 buah, ose standar volume 1 µl (32 buah), *biosafety cabinet* (Biobase), oven (wagtech) 1 buah, (1 buah), *cool box* (1 buah), kaca objek (35 buah), kaca penutup (35 buah) dan mikroskop binokuler (ollympus) 1 buah.

2. Bahan

Urine ibu hamil, spuit 3cc (BD) 15 buah, *yellow tip* (6 buah), tabung *vacutainer* tanpa antikoagulan 3ml (BD) 15 buah, media SDA (Oxoid) 45,5 gr, antibiotik kloramfenikol, larutan LPCB (Merck) 1 ml, akuades, alkohol 70%, NaOH 0.01 10 ml, HCL 0.01 N 10 ml, *tissue*, kapas berlemak, aluminium foil, tabung eppendorf dan kertas.

3. Prosedur kerja

a. Penampungan urine

Menurut Vandepitte (2010) pengambilan spesimen urine untuk pemeriksaan mikrobiologi harus disimpan dan diambil secara steril. Penyimpanan spesimen urine disimpan pada botol kaca atau plastik yang steril dan bermulut besar untuk memudahkan dalam penyimpanan. Adapun cara pengambilan spesimen urine yaitu:

- 1) Mencuci tangan dengan bersih menggunakan sabun dan air lalu dikeringkan dengan handuk atau *tissue*.
- 2) Dibersihkan daerah vulva serta labia secara seksama menggunakan air bersih.
- 3) Dikeringkan daerah vulva dan labia dengan kasa steril atau dengan *tissue* kering.
- 4) Membuang urine awal sedikit, lalu urine selanjutnya ditampung diwadah steril dan kemudian ditutup rapat.

b. Pembuatan media SDA

Adapun prosedur pembuatan media SDA yaitu sebagai berikut (Savitri dan Novel, 2010):

- 1) Digunakan APD yang lengkap, baik dan benar.

- 2) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 3) Dipastikan semua alat dan bahan siap untuk digunakan.
- 4) Ditimbang serbuk media SDA

$$\text{Perhitungan} = \frac{700 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{65 \text{ gr}}$$

Jadi, serbuk media yang ditimbang sebanyak 45,5 gram.

- 5) Dipindahkan media SDA yang telah ditimbang ke dalam gelas beker.
- 6) Ditambahkan akuades sebanyak 700 ml pada gelas beker yang telah berisi media, lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer.
- 7) Dihomogenkan larutan dengan bantuan magnetic stirrer dengan suhu $\leq 100^{\circ}\text{C}$.
- 8) Dicek pH larutan sesuai petunjuk (pH 5,6) pada keadaan suhu 25°C .
- 9) Ditambahkan larutan NaOH 0,01 N jika keadaan larutan SDA asam, dan ditambahkan larutan HCl 0.01 N jika larutan SDA keadaan basa.
- 10) Ditutup larutan lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 11) Dikeluarkan larutan dari autoclave jika suhu dalam keadaan 20°C dan tekanan pada autoclave 0°C .
- 12) Ditunggu larutan dalam keadaan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).
- 13) Ditambahkan antibiotik kloramfenikol 500 mg (dimana antibiotik kloramfenikol sebelumnya sudah dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 ml, dan tiap 100 ml SDA = 1 ml suspensi antibiotik kloramfenikol).
- 14) Dihomogenkan larutan yang telah ditambahkan antibiotik kloramfenikol.
- 15) Dituangkan larutan ke dalam *petridish* steril dan ditunggu hingga media memadat pada *petridish*.
- 16) Dilakukan uji kualitas media serta uji control positif dan negatif pada media yang telah dibuat.

17) Disimpan media yang telah memadat pada suhu 4-8⁰C.

c. Pemeriksaan kultur urine pada media SDA

Menurut Siregar (2004), pemeriksaan kultur urine untuk mengidentifikasi jamur *Candida albicans* dapat dilakukan pada media SDA dengan cara:

- 1) Digunakan APD yang lengkap, baik dan benar.
- 2) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 3) Pastikan sampel urine dan media SDA dalam suhu ruang ($\pm 25^0\text{C}$).
- 4) Dikocok urine perlahan dan diambil urine bagian permukaan dengan ose standar 1 μl .
- 5) Dilakukan dengan menggoreskan dengan 4 kuadran pada media SDA.
- 6) Dalam menanam sampel, pastikan bekerja dengan aseptis, agar tidak terjadi kontaminasi.
- 7) Ditunggu hingga sampel sedikit kering, lalu diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 2-3 hari.
- 8) Dilakukan pengamatan makroskopis pada media yang telah diinkubasi, yaitu diamati permukaan koloni halus dan licin, berwarna putih atau kekuning-kuningan dan berbau ragi.
- 9) Selanjutnya koloni diamati dengan mikroskopis.

d. Pemeriksaan mikroskopis koloni *Candida albicans*

Menurut Menaldi, Widiati, dan Nilasari (2015), pemeriksaan biakan jamur secara mikroskopis dapat dilakukan menggunakan pewarnaan larutan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB), dengan cara sebagai berikut:

- 1) Digunakan APD dengan baik, benar, dan lengkap.
- 2) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.

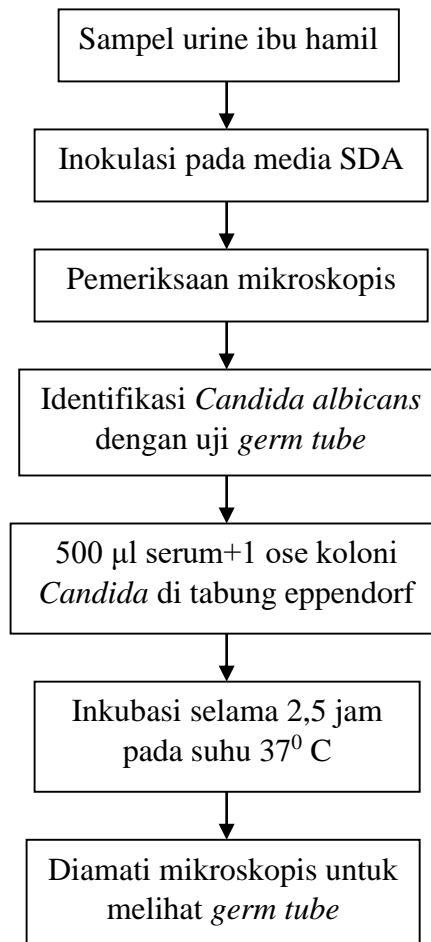
- 3) Dibuat preparat koloni jamur.
- 4) Diambil koloni jamur yang tumbuh pada titik tengah antara bagian tepi dan pusat koloni.
- 5) Diletakkan sampel diatas kaca objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%.
- 6) Ditambahkan 1-2 tetes larutan LPCB ke atas kaca objek.
- 7) Ditutup dengan kaca penutup dan didiamkan selama 20 menit.
- 8) Diamati sediaan dengan mikroskop dengan pembesaran objektif 10× dan 40×.
- 9) Dilaporkan hasil pengamatan adanya ragi berbentuk bulat atau lonjong, terdapat blastospora, *pseudohifa*, dan klamidiospora.

e. Pemeriksaan *germ tube*

Adapun prosedur pemeriksaan *germ tube* yaitu (Mulyati dll., 2002):

- a. Digunakan APD dengan baik, benar, dan lengkap.
- b. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- c. Dimasukkan serum sebanyak 0,5 ml kedalam tabung eppendorf.
- d. Ditambahkan koloni jamur *Candida* dari media SDA.
- e. Sebagai kontrol uji *germ tube*, ditambahkan koloni *Candida albicans* ATCC 10231 pada 0,5ml serum.
- f. Inkubasi selama 2,5 jam pada suhu 37⁰ C.
- g. Dibuat preparat dari serum yang telah diinkubasi.
- h. Diamati pada mikroskop dengan pembesaran objektif 10× dan 40×.
- i. Dilaporkan hasil pengamatan adanya *germ tube*.

Adapun skema kerja pada penelitian ini:



Gambar 2. Skema Kerja
Isolasi dan Identifikasi Jamur *Candida albicans* pada Urine Ibu Hamil
di RSUD Mangusada Badung

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data primer dan data sekunder yang diperoleh selanjutnya dikumpulkan, dikelompokkan, diolah dan disajikan dalam bentuk tabel serta diberi narasi

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif, dimana membandingkan kenyataan yang terjadi di lapangan atau hasil dari pemeriksaan terhadap jamur *Candida albicans* yang didapatkan dari urine ibu hamil dengan teori dan tabel kunci identifikasi jamur *Candida albicans* yang digunakan.