

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif yaitu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan suatu fenomena yang terjadi dalam masyarakat. Dalam penelitian ini dilakukan dengan desain *cross sectional*, artinya identifikasi jamur *Candida* pada sampel swab vagina pada pekerja seks komersial dilakukan dengan cara pendekatan, observasi atau pengumpulan data sekaligus pada waktu bersamaan (Notoatmodjo, 2012).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Puskesmas II Denpasar Selatan dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai bulan Juni 2018.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah Pekerja Seks Komersial yang melakukan pemeriksaan IMS di Puskesmas II Denpasar Selatan.

2. Sampel penelitian

a. Kriteria sampel

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

- 1) Pekerja seks komersial bersedia untuk diikutkan dalam penelitian dengan menandatangani *inform consent*.
- 2) Pekerja seks komersial tidak sedang mengalami menstruasi.
- 3) Pekerja seks komersial tidak sedang hamil.

Sedangkan kriteria eksklusi dari sampel penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- 1) Pekerja seks komersial membatalkan kesediaannya untuk menjadi responden penelitian.
- 2) Subjek berhalangan hadir atau tidak hadir di tempat ketika pengambilan swab vagina dilakukan.

b. Jumlah dan besar sampel

Penentuan estimasi besar sampel penelitian ini menggunakan jumlah populasi pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan IMS di Puskesmas II Denpasar Selatan tahun 2017. Berdasarkan data yang diperoleh dari Puskesmas II Denpasar Selatan pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan pada tahun 2017 yaitu sebanyak 66 pasien. Sehubungan dengan jumlah populasi pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan di Puskesmas II Denpasar Selatan pada tahun 2018 belum diketahui, maka dapat dilakukan penentuan estimasi ukuran sampel penelitian menggunakan tabel Isaac dan Michael dalam Sugiyono (2012) yang didasarkan pada rumus sebagai berikut:

$$s = \frac{\lambda^2 \times N \times P \times Q}{d^2(N - 1) + \lambda^2 \times P \times Q}$$

Ditentukan λ^2 dengan dk sama dengan 1, taraf kesalahan 1 %, 5 % dan 10 %, serta ditentukan N sebagai populasi, $P=Q=0,5$; $d=0,05$ dan s sebagai jumlah sampel, maka estimasi besar sampel dengan mempertimbangkan taraf kesalahan 5 % didapatkan hasil sebesar 55 pekerja seks komersial yang digunakan sebagai sampel. Karena keterbatasan waktu, biaya, dan tenaga maka sampel dalam penelitian ini diambil sebesar 30 sampel dari populasi pekerja seks komersial yang melakukan pemeriksaan IMS di Puskesmas II Denpasar. Menurut Sugiyono (2012), ukuran sampel yang layak dalam penelitian adalah antara 30 sampai dengan 500 sampel.

c. Teknik pengambilan sampel

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

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer yang akan dikumpulkan dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan laboratorium sampel swab vagina Pekerja Seks Komersial (PSK).

b. Data sekunder

Data sekunder yang akan dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data jumlah Pekerja Seks Komersial (PSK) yang melakukan pemeriksaan IMS di Puskesmas II Denpasar Selatan.

2. Cara pengumpulan data

a. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data dilakukan berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium kultur mukosa vagina dan hasil uji *germ tube*.

b. Wawancara

Wawancara dilakukan dengan memberikan pertanyaan langsung mengenai populasi dan identitas responden.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data yaitu:

- a. Kamera untuk dokumentasi.
- b. Alat tulis.
- c. Alat untuk pemeriksaan laboratorium.

E. Alat, Bahan, dan Prosedur

1. Alat

Alat yang dibutuhkan adalah neraca analitik (AS 220.R2, *Radwag*) (1 buah), erlenmeyer (*Iwaki-Pyrex®*) 250 ml (3 buah), spatula (1 buah), gelas ukur (*Iwaki-Pyrex®*) 500 ml (1 buah), gelas beaker (*Iwaki-Pyrex®*) 250 ml (1 buah), *magnetic* dan *stirrer* (J-HMS, *Jisico*) (1 buah), *autoclave* (SX-500, *TOMY*) 1 buah, *petridisk* steril (35 buah), *biosafety cabinet* (BSC-1800 II B2-X, *Biobase*) (1 buah), lampu spinitus (1 buah), *ball* pipet (d & n ball pipet) (1 buah), pipet ukur (*Iwaki-Pyrex®*) 20 ml (1 buah), indikator pH universal (10 buah), *incubator* (T01892, *Esco*) 1 buah, oven (*wagtech*) 1 buah, ose (1 buah), kaca objek (30 buah), kaca penutup (30 buah),

mikroskop (CX 21, *Olympus*) (1 buah), spuit (BD Vacutainer) (15 buah), mikropipet (*SOCOREX*) 1 buah, serta *cool box* (1 buah).

2. Bahan

Bahan yang diperlukan adalah larutan LPCB (Merck) 5 ml, lidi kapas steril (30 buah), aquades, alkohol 70 %, kapas berlemak, aluminium foil, tissue, antibiotik kloramfenikol, koloni *Candida albicans* ATCC 10231, media transport stuart 2,4 gr (Oxoid), media SDA 58,50 gr (Oxoid), tabung *eppendorf* (30 buah), serum (15 ml), tabung *vacutainer* (BD Vacutainer) (15 buah), *yellow tip* (10 buah), NaOH 0,01 N 10 ml, HCl 0,01 N 10 ml serta sampel swab vagina.

3. Prosedur kerja

a. Pembuatan media

Pembuatan media yang digunakan dalam pemeriksaan laboratorium jamur *Candida* dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Pembuatan media *transport Stuart* (Oxoid Microbiology, 2018).
 - a) Digunakan APD dengan baik, benar, dan lengkap.
 - b) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - c) Dipastikan semua alat dan bahan dalam keadaan siap digunakan.
 - d) Ditimbang serbuk media *Stuart* sesuai volume yang dibuat.

Perhitungan media:

$$\frac{150 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{16 \text{ gram}}$$

$$x = 2,4 \text{ gram}$$

Jadi, berat media *Stuart* yang ditimbang adalah 2,4 gram.

- e) Dipindahkan serbuk media *Stuart* ke dalam gelas beaker.

- f) Ditambahkan aquades sebanyak 150 ml kemudian larutan dipindahkan ke Erlenmeyer. Dihomogenkan larutan dengan bantuan pemanasan dan pengadukan.
 - g) Pelarutan tidak boleh sampai mendidih (pelarutan harus sempurna sehingga tidak ada kristal yang bersisa).
 - h) Dicek pH larutan sesuai petunjuk media ($\text{pH} = 7,4 \pm 0,2$) pada suhu 25°C .
 - i) Diperhatikan pengecekan suhu larutan saat pengecekan pH media.
 - j) Ditambah NaOH 0,01 N jika pH larutan media asam dan ditambahkan HCl 0,01 N jika pH larutan media basa.
 - k) Distrelisasi $\pm 121^{\circ}\text{C}$ (1 atm) selama ± 15 menit.
 - l) Dikeluarkan larutan dari *autoclave*, saat suhu sudah rendah (20°C) dan tekanan telah turun (dilihat indikator *autoclave*).
 - m) Dimasukkan media hingga $2/3$ tabung serologis.
 - n) Disumbat tabung dengan kapas berlemak dan ditutup dengan aluminium foil.
 - o) Dibiarkan media membeku sempurna.
 - p) Dilakukan uji kualitas media serta uji kontrol positif dan negatif pada media yang dibuat.
 - q) Disimpan pada suhu $4-8^{\circ}\text{C}$ untuk menyimpan media.
- 2) Pembuatan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) (Safitri and Novel, 2010).
- a) Digunakan APD yang lengkap, baik dan benar.
 - b) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - c) Dipastikan semua alat dan bahan siap untuk digunakan.
 - d) Ditimbang serbuk media SDA sesuai dengan perhitungan media:

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

x = 45,5 gram

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

- e) Dipindahkan media SDA yang telah ditimbang ke dalam gelas beaker.
- f) Ditambahkan akuades sebanyak 700 ml pada gelas beaker yang telah berisi media, lalu dipindahkan ke dalam Erlenmeyer.
- g) Dihomogenkan larutan dengan bantuan magnetic stirrer dengan suhu $\leq 100^{\circ}\text{C}$.
- h) Dicek pH larutan sesuai petunjuk (pH $5,6 \pm 0,2$) pada keadaan suhu 25°C .
- i) Ditambahkan larutan NaOH 0,01 N jika keadaan larutan SDA asam, dan ditambahkan larutan HCl 0.01 N jika larutan SDA keadaan basa.
- j) Ditutup larutan lalu disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- k) Dikeluarkan larutan dari *autoclave* jika suhu sudah turun menjadi 20°C dan tekanan pada *autoclave* 0°C .
- l) Ditunggu larutan dalam keadaan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).
- m) Ditambahkan antibiotik kloramfenikol 500 mg (antibiotik kloramfenikol sebelumnya sudah dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 ml, dan tiap 100 ml SDA = 1 ml suspensi antibiotik kloramfenikol).
- n) Dihomogenkan larutan yang telah ditambahkan antibiotik kloramfenikol.
- o) Dituangkan larutan ke dalam *petridisk* steril dan ditunggu hingga media memadat pada *petridisk*.
- p) Dilakukan uji kualitas media serta uji kontrol positif dan negatif pada media yang telah dibuat.
- q) Disimpan media yang telah memadat pada suhu $4-8^{\circ}\text{C}$.

b. Pembuatan serum

- 1) Digunakan APD dengan baik, benar, dan lengkap.
- 2) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 3) Dilakukan pengambilan darah vena.
- 4) Didiamkan darah sampai membeku.
- 5) Dilakukan centrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.
- 6) Dipindahkan serum yang terbentuk ke dalam tabung.

c. Pengambilan swab vagina.

Menurut King Edward Memorial Hospital (2018) pengambilan spesimen swab vagina dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 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) Bukalah sebagian pembungkus kapas lidi steril. Ambillah secara perlahan lidi kapas, jangan menyentuh bagian halus dari kapas lidi atau mengenai bagian luar dari pembungkus kapas lidi.
- 5) Peganglah kapas lidi dengan meletakkannya diantara ibu jari dan jari telunjuk.
- 6) Masukkan kapas lidi steril ke dalam vagina secara berhati - hati kira-kira 1-2 cm melalui introitus vagina kemudian usap bagian sisi vagina.
- 7) Keluarkan kapas lidi perlahan tanpa menyentuh vulva dan kulit.
- 8) Segera masukkan kapas lidi ke dalam medium transport, jangan mengenai dinding tabung. Pastikan semua bagian kapas berada dalam isi medium transport.
- 9) Patahkanlah ujung atas kapas lidi secara berhati-hati.

- 10) Tutuplah medium transport dengan erat.
- 11) Beri label identitas sampel pada medium transport.
- 12) Buanglah ujung kapas lidi ke dalam tempat sampah medis.

d. Kultur swab vagina pada media SDA

Menurut Siregar (2004), kultur 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) Dikeluarkan sampel dari media *transport Stuart*.
- 4) Dilakukan kultur dengan menggoreskan dengan 4 kuadran pada media SDA.
- 5) Dalam menanam sampel, pastikan bekerja dengan aseptis, agar tidak terjadi kontaminasi.
- 6) Ditunggu hingga sampel sedikit kering, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2-3 hari.
- 7) Dilakukan pengamatan makroskopis pada media yang telah diinkubasi, yaitu diamati permukaan koloni halus dan licin, berwarna putih atau kekuning-kuningan dan berbau ragi.
- 8) Selanjutnya koloni diamati dengan mikroskopis.

e. Pemeriksaan mikroskopis koloni *Candida*

Menurut Menaldi, Widaty and 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 ditetesi dengan alkohol 70 %.
- 6) Ditambahkan 1-2 tetes larutan LPCB ke atas kaca objek.
- 7) Ditungkup 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.

f. Pemeriksaan *germ tube*

Menurut Aryal (2015) pemeriksaan *germ tube* dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Digunakan APD dengan baik, benar, dan lengkap.
- 2) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 3) Dimasukkan serum sebanyak 0,5 ml kedalam tabung eppendorf.
- 4) Tambahkan satu ose koloni jamur *Candida* dari media SDA.
- 5) Sebagai kontrol uji *germ tube*, ditambahkan satu ose koloni *Candida albicans* ATCC 10231 pada 0,5 ml serum.
- 6) Inkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C.
- 7) Dibuat preparat dari serum yang telah diinkubasi.
- 8) Diamati pada mikroskop dengan pembesaran objektif 10× dan 40×.
- 9) Dilaporkan hasil pengamatan adanya *germ tube*.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

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

2. Analisis data

Analisis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif, yaitu membandingkan kenyataan di lapangan atau hasil pemeriksaan terhadap jenis jamur *Candida* yang ditemukan pada swab vagina pekerja seks komersial dengan teori dan standar yang ada.