

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 (Notoatmodjo, 2012). Keberadaan *Candida sp* dideskripsikan sesuai dengan hasil pemeriksaan laboratorium dari kondisi lansia di desa Kedewatan.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Desa Kedewatan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
2. Waktu penelitian Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai bulan Mei 2020

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua lansia di Banjar Kedewatan. Dengan jumlah 641, sebanyak 320 laki laki dan 321 perempuan.

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) Lansia bersedia untuk diikutkan dalam penelitian ini dengan menandatangani *inform consent*.
- 2) Lansia dengan umur lebih dari 50 tahun.
- 3) Lansia dengan jenis kelamin perempuan.
- 4) Lansia bersedia memberikan sampel urine

Sedangkan kriteria eksklusi dari sampel penelitian ini yaitu :

- 1) Lansia membatalkan kesediaannya untuk menjadi responden penelitian
- 2) Responden sedang tidak ingin berkemih.

b. Jumlah dan besar sampel

Pada penelitian ini sampel yang dapat diambil sebesar 16 sampel urine lansia.

c. Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *nonprobability sampling* secara *purposive sampling*. Pengambilan sampel secara *purposive sampling* ini dilakukan dengan pertimbangan peneliti sendiri, berdasarkan ciri-ciri atau sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Notoatmodjo, 2012). Ciri-ciri atau sifat populasi diantaranya merupakan lansia dengan umur 50 tahun keatas, jenis kelamin perempuan, dan lansia bersedia untuk diambil urinenya.

d. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer yang diperlukan dalam penelitian ini adalah :

- 1) Identitas lasia

2) Karakteristik responden meliputi kelompok umur, mengonsumsi antibiotik , riwayat penyakit, dan higienis perorangan.

b. Data sekunder

Data sekunder yang akan dikumpulkan dalam penelitian ini yaitu jumlah lansia Banjar Kedewatan.

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 lansia mengenai isolasi dan identifikasi *Candida sp*

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen 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

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, pot penampung urine steril (30 buah), petridisk steril (30 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).

2. Bahan

Urine Lansia, larutan LPCB (Merck) 5 mL, aquades, alkohol 70%, kapas berlemak, aluminium foil, tissue, media SDA (Oxoid) 45,5 gr, antibiotik kloramfenikol, label. NaOH 0.01 10 ml, HCL 0.01 N 10 ml, kertas pH indikator.

3. Prosedur

a. Penampungan Urine

Menurut Vandepitte (2010) cara pengambilan spesimen urine untuk pemeriksaan mikrobiologi adalah urine pancar tengah. Disimpan dalam botol kaca atau plastik yang steril dan bermulut besar untuk memudahkan dalam penyimpanan.

b. Pembuatan media SDA

Prosedur pembuatan media SDA menurut Safitri dan Novel (2010) 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. Ditimbang serbuk media SDA dengan perhitungan

$$65 \text{ gr}/1000\text{mL} = x/700 \text{ mL}$$

$$x = 45,5 \text{ gram}$$

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. Ditunggu hingga media memadat
 17. Disimpan media yang telah memadat pada suhu $4-8^{\circ}\text{C}$
- c. Kultur *Candida sp* pada urine dengan media SDA menurut Siregar (2004) sebagai berikut
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 ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).
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 37°C 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 *Candida sp* secara mikroskopis

Pemeriksaan jamur *Candida sp* menggunakan larutan pewarna *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB) dengan cara sebagai berikut (Menaldi dkk, 2015) :

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. 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 dkk., 2002):

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. Ditambahkan koloni jamur *Candida* dari media SDA.
5. Sebagai kontrol uji germ tube, ditambahkan koloni *Candida albicans* ATCC 10231 pada 0,5ml serum.
6. Inkubasi selama 2,5 jam pada suhu 37⁰C.
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 primer dan data primer yang diperoleh selanjutnya diperiksa ulang terhadap data hasil penelitian meliputi kelengkapan data, keseragaman data dan kebenaran data. Lalu dilakukan *coding*, *coding* merupakan kegiatan mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan (Notoatmojo, 2010 dalam Fatimah 2017). Data yang didapatkan di tampilkan dengan tabel data yang sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti . Dalam

penelitian ini data disajikan dalam bentuk tabel yang menggambarkan hasil isolasi jamur *Candida sp*

2. Analisis data

Data yang didapatkan digolongkan sesuai dengan ada tidaknya *Candid sp* Kemudian dari penggolongan tersebut dilakukan analisis data secara deskriptif untuk membuktikan adanya jamur *Candida sp* yang didapatkan dari pemeriksaan

$$P = f/N \times 100\%$$

Keterangan

P : Presentase

N : Jumlah seluruh urine yang diperiksa

F : Frekuensi urine yang positif terdapat jamur *Candida albicans*