

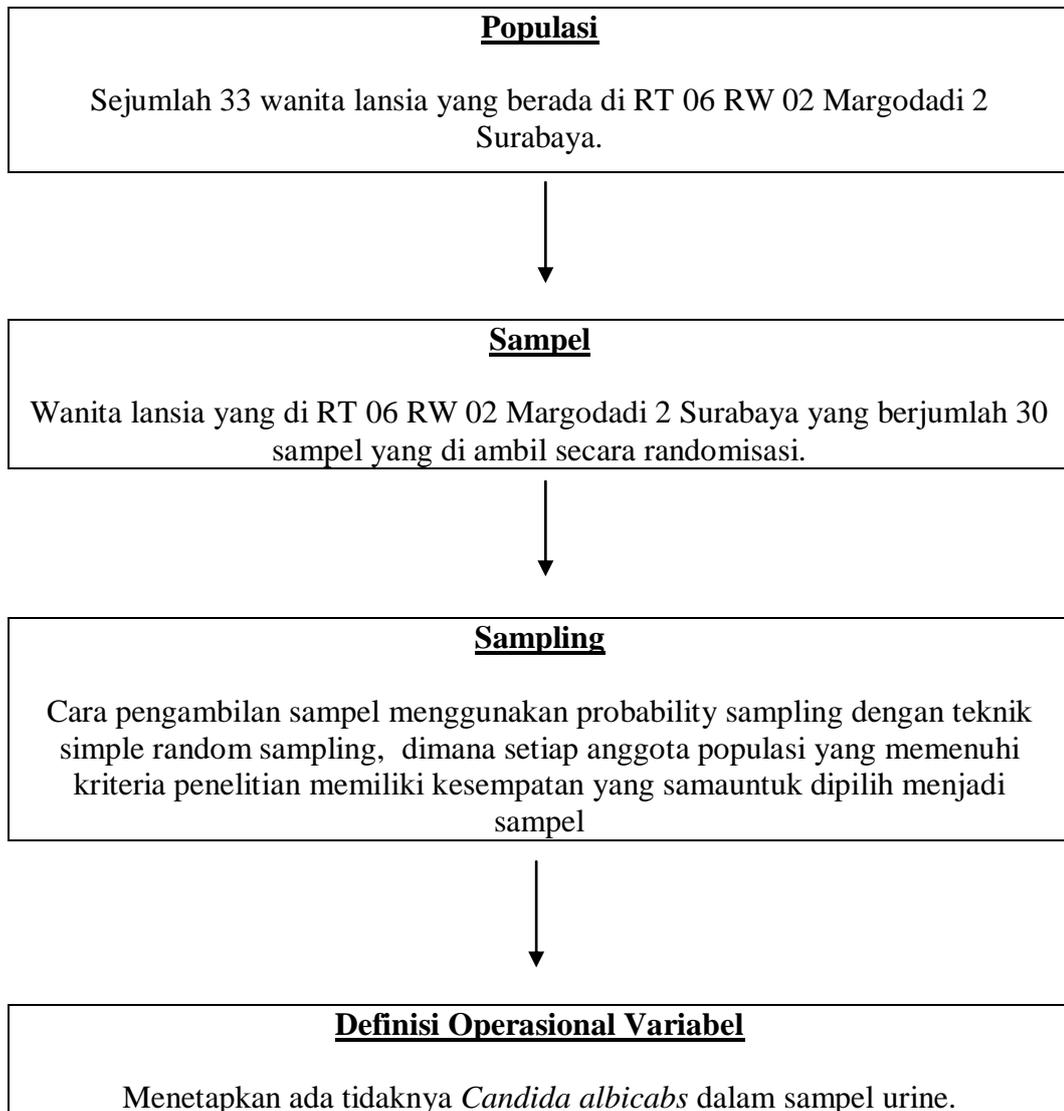
BAB 3

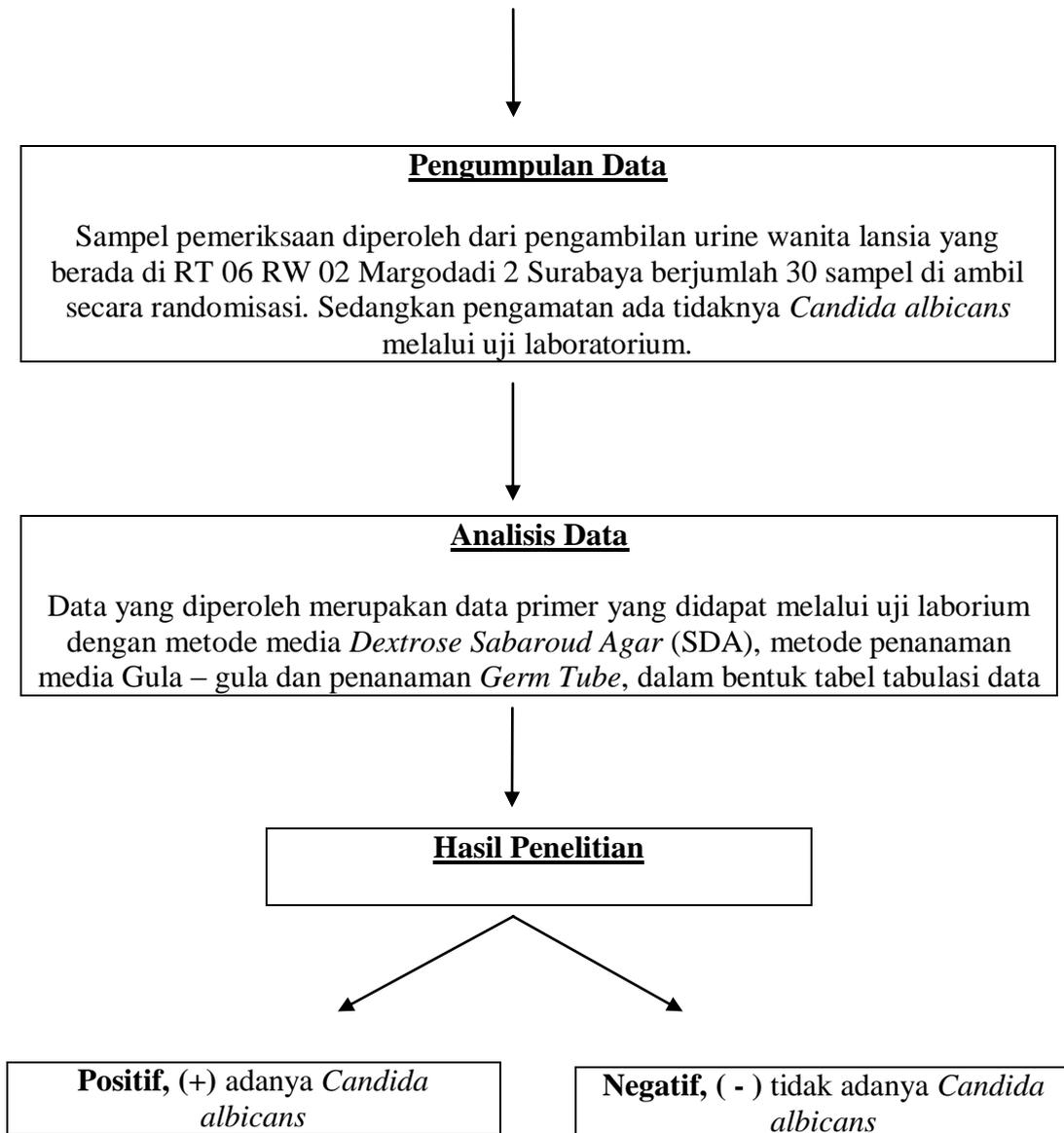
METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif analitik yaitu untuk menggambarkan ada dan tidaknya jamur *Candida albicans* dalam urine pada wanita lansia.

3.2 Kerangka Kerja





3.3 Populasi, Sampel dan Sampling Penelitian

3.3.1 Populasi

Pada populasi dalam penelitian ini adalah semua wanita lansia yang berada di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya yang berjumlah 33 orang.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah wanita lansia yang di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya yang berjumlah 30 sampel yang di ambil secara randomisasi. Besar sampel adalah banyaknya wanita lansia yang akan dijadikan sampel dikutip dari (Nursalam, 2001). Pada penelitian ini mengacu pada populasi kecil atau kurang dari 10,000 maka rumus yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

n = besar sampel

N = besar populasi

d = ketetapan yang di inginkan

Dikutip dari (Nursalam, 2001) dalam (Zhalina, 2011).

Untuk penelitian ini jumlah N = 33 dengan ketetapan 0,05, maka perhitungan sampel adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} n &= \frac{33}{1 + 33 (0,05^2)} \\ &= \frac{33}{1,0825} \\ &= 30 \text{ sampel} \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan di atas maka besarnya sampel yang diambil sebanyak 30 sampel.

3.3.2.1 Kriteria Inklusi

1. Wanita lansia yang tinggal di di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya.
2. Wanita lansia yang dapat membaca, menulis, serta memahami Bahasa Indonesia dengan baik.
3. Sehat jasmani dan rohani.
4. Wanita lansia bersedia untuk dijadikan sampel penelitian

3.3.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Wanita lansia yang tidak tinggal di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya.
2. Wanita yang tidak Wanita lansia yang dapat membaca, menulis, serta memahami Bahasa Indonesia dengan baik
3. Wanita lansia yang sedang sakit.
4. Wanita lansia tidak bersedia untuk dijadikan sampel penelitian

3.3.3 Sampling

Pada penelitian ini cara pengambilan sampel menggunakan probability sampling dengan teknik simple random sampling, dimana setiap anggota populasi yang memenuhi kriteria penelitian memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih menjadi sampel (Nursalam, 2001) dikutip dari (Sari, 2009).

3.4 Lokasi dan Waktu penelitian

3.4.1 Lokasi Penelitian

Tempat pengambilan sampel dilaksanakan di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya, sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Universitas Muhammadiyah Surabaya Jalan Sutorejo No. 59 Surabaya.

3.4.2 Waktu Penelitian

Waktu Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai dengan bulan Juli tahun 2015. Waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan April 2015.

3.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.5.1 Variabel Penelitian

Adanya jamur *Candida albicans* pada urine wanita lansia di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya.

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

Jamur *Candida albicans* dalam penelitian ini di tetapkan berdasarkan ada dan tidaknya jamur *Candida albicans* dalam urine pada wanita di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya.

Data kandungan jamur *Candida albicans* dikategorikan :

Positif, (+) :

Apabila pada urine wanita lansia di temukan jamur *Candida albicans*.

Negatif, (-) :

Apabila pada urine wanita lansia tidak di temukan jamur *Candida albicans*.

3.6 Metode Pengumpulan Data

Sampel pemeriksaan diperoleh dari pengambilan urine wanita lansia yang berada di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya berjumlah 30 sampel di ambil secara randomisasi. Sedangkan pengamatan ada tidaknya *Candida albicans* melalui uji laboratorium.

3.6.1 Metode Analisis

Data yang diperoleh merupakan data primer yang di dapat melalui uji laboratorium dengan metode media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA), jika positif terdapat koloni pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA), maka dilanjutkan dengan uji laboratorium penanaman dengan metode media gula – gula dan *germ tube*.

3.6.2 Persiapan Pemeriksaan

3.6.2.1 Alat yang di gunakan dalam pemeriksaan ini adalah :

Beaker glass, erlenmeyer, autoclave, oven, pipet ukur, pipet pasteur, petridish steril, tabung durham, tabung reaksi, kasa + kapas, timbangan atau neraca analitik , kaki 3 + bunsen, ose bulat steril, mikroskop, objek glass, cover glass, gelas ukur, etiket, pengaduk atau spatula, centrifuge, kertas pH.

3.6.2.2 Bahan yang di gunakan dalam pemeriksaan ini adalah :

Bahan yang digunakan adalah urine wanita lansia di RT 06 RW 02 Margodadi 2 Surabaya yang telah diberi label, Media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA), Media gula – gula yang terdapat 5 macam media yakni (laktosa, maltosa, sukrosa, manosa, glukosa), Serum Manusia yang normal , Pepton Water, Pz atau NaCl 0,85% yang telah Steril kemudian

menggunakan antibiotik Cloramphenicol dan yang terakhir yakni Indikator BTB 0,4%.

3.6.2.3 Persiapan Sampel Urine Wanita Lansia :

1. Mengambil sampel wanita urine yang berada di RT 06 RW 02 Margodadi Gang 2 Surabaya dengan jumlah sampel yang di ambil secara random 30 dari 33 jumlah populasi kemudian beri label 1 - 30.
2. Setelah didapat 30 sampel urine, kemudian sampel di masukkan ke tabung sesuai kode atau nomor sampel.
3. Setelah itu centrifuge sampel dengan kecepatan 2500rpm. Lalu ambil endapannya saja.

3.6.2.4 Pembuatan Media *Dextrose Sabaroud Agar (SDA)* :

1. Menyiapkan alat bahan media dan reagen yang dibutuhkan lalu berilah kode atau nomor sampel pada petridish steril.
2. Timbang media *Dextrose Sabaroud Agar (SDA)* 29.25 gram, aquades 450 ml, lalu campur bahan yang telah di timbang hingga homogen.
3. Larutkan Media *Dextrose Sabaroud Agar (SDA)* dengan dipanaskan hingga larut sempurna .
4. Setelah larut sempurna, suam – suam di bak air hingga suam – suam kuku. Kemudian pH dengan kertas pH hingga 5.5 - 7.8. lalu lakukan sterilisasi pada alat yang akan dipakai dengan autoclave suhu 121°C selama 15 menit.
5. Setelah di sterilisasi tambahkan larutan chloramphenicol 1 ml secara steril. Dengan komposisi (250 mg chloramphenicol di tambah 10 ml pz steril).

6. Setelah pencampuran selesai lakukan penuangan pada petridish steril secara perlahan. Lalu tunggu hingga dingin hingga media menjadi padat. Kemudian siap untuk penanaman sampel.

3.6.2.5 Penanaman pada Media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) :

1. Dibutuhkan media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) yang telah di dinginkan dan siapkan alat yang dibutuhkan untuk menanam sampel urine.
2. Setelah bahan dan alat telah siap kemudian, steril ose bulat pada api bunsen lalu dinginkan. Kemudian celupkan ose bulat pada endapan sampel urine yang pertama, lalu lakukan teknik penanaman pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA). Setelah penanaman steril ose kembali. Lakukan teknik yang sama hingga sampel terakhir. Lalu inkubasi media yang telah dilakukan penanaman dengan suhu 37°C selama 24 - 48 jam.
3. Hari berikutnya lihat adakah pertumbuhan koloni pada media SDA jika pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) terdapat koloni maka lakukan penanaman pada media gula – gula (Soeswarno, 1996) dalam (Trisnadewi, 2014).

3.6.2.6 Pembuatan Media Gula - gula :

1. Mempersiapkan alat dan bahan untuk pembuatan media gula –gula, dengan menimbang Pepton water sebanyak 3.825 gram kemudian addkan dengan 150 ml aquades, homogen dan panaskan dengan pemanas hingga larut sempurna, kemudian suam – suam lalu di pH 5,5 – 7,8. Lalu timbang salah satu media gula – gula (sukrosa, maltosa, manosa, glukosa, laktosa) sebanyak 1,5 gram. Kemudian campurkan hingga homogen lalu panaskan hingga larut sempurna, kemudian

tambahkan BTB 0,4% hingga pH 7,6 – 7,8. Lakukan hal yang sama untuk media gula – gula lainnya.

2. Tiap media gula – gula yang telah selesai dilakukan penambahan indikator BTB 0,4% kemudian lakukan penuangan pada tiap tabung reaksi yang telah terisi tabung durham jangan sampai ada udara pada tabung durham yang telah diberi media gula – gula, lalu beri tutup kasa dengan warna. Yakni :

Maltosa : tutup kasa warna hijau

Sukrosa : tutup kasa warna biru

Manosa : tutup kasa warna putih

Laktosa : tutup kasa warna kuning

Glukosa : tutup kasa warna merah

3. Lakukan pensterilan ke dalam autoclave dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah steril lakukan penanaman untuk koloni jamur.

3.6.2.7 Penanaman koloni jamur pada media gula –gula :

1. Amati koloni jamur pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) yang telah dilakukan penanaman dengan sampel urine. Jika terdapat koloni jamur maka lakukan penanaman pada media gula – gula, dengan mengambil koloni yang merupakan jamur pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA).

2. Kemudian steril ose bulat lalu dinginkan, mengambil koloni jamur dari media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) lalu tanam pada media gula – gula. Lalu inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam dan lihatlah hasilnya hasilnya (Depkes, 1998).

3.6.2.8 Pembuatan *Germ Tube*

1. Sediakan alat dan bahan untuk uji jamur *Candida albicans* menggunakan serum dengan melakukan pengambilan darah vena pada manusia
2. Kemudian siapkan peralatan dan bahan-bahan yang diperlukan dipersiapkan sedemikian rupa sehingga mudah dijangkau dari tempat pengambilan darah.
3. Pembendung darah dilakukan dengan memasang tourniquet diatas lipatan lengan penderita $\pm 5 - 7$ cm. Keeratan tourniquet dapat ditanyakan pada penderita, disamping petugasnya sendiri harus dapat memperkirakan. Kemudian jari-jari penderita menggenggam. Bila menggunakan pembendung lain, ikatan harus diatur agar mudah dilepas kembali.
4. Pilih vena yang letaknya jelas dan mudah teraba. Jika vena tidak terlihat jelas dapat dilakukan perabaan atau palpasi.
5. Daerah penusukan di bersihkan dengan kapas alkohol 70%. Jangan menyentuh lagi daerah ini dengan jari atau benda-benda lain yang tidak steril, atau meniupnya dengan mulut.
6. Lengan penderita di bawah daerah vena yang akan ditusuk ditekan dengan ibu jari tangan kiri sampai kulit penderita menjadi tegang. Tindakan ini dimaksudkan agar letak vena menjadi fix, tidak mudah bergerak.
7. Syringe di pegang pada barrel atau tabungnya memakai ibu jari tengah tangan kanan pada posisi dimana petugas dapat melihat garis-garis skala volume syringe, dan lubang jarum menghadap ke atas. Sementara itu telunjuk berfungsi sebagai pedoman arah tusukan.

8. Dengan gerakan yang langsung atau tidak tersendat-sendat tusukan dapat kita lakukan pada vena sedikit di bawah lipatan lengan dengan perhitungan pada waktu ujung jarum mencapai vena tepat pada lipatan lengan penderita.
9. Arah tusukan di sesuaikan dengan perpanjangan arah vena. Jangan menusuk dengan arah memotong dari kanan atau kiri vena (resiko vena tembus besar). Sudut antara kulit penderita dengan jarum $\pm 15^\circ$. Untuk vena yang lebih kecil dan letaknya superficial dapat dilakukan lebih mendatar ($< 15^\circ$). Bila ujung jarum telah mencapai vena, ibu jari tangan kiri petugas berpindah ke atas menahan syringe agar tidak bergulir, pada pangkal jarum. (ingat tindakan ini bukan menekan, hanya sekedar menahan syringe).
10. Ibu jari dan jari tengah petugas memegang plunger atau pangkal hisapan syringe, kemudian pelan-pelam dilakukan penghisapan darah. Telunjuk tangan kanan petugas harus mampu menahan agar letak jarum tidak tercabut dari vena, atau justru tertekan sehingga menembus vena.
11. Bila hisapan terasa berat, padahal tusukan jarum mengarah ke vena yang benar, kemungkinan yang terjadi adalah : ujung jarum hanya sebagian berada dalam vena, atau justru menembus dinding vena sebelah bawah.
12. Tindakan yang di anjurkan ialah memperdalam atau menarik syringe sehingga hisapan menjadi ringan.
13. Tourniquet atau pembendung lain dilonggarkan pada saat darah mulai memasukin syringe. Ikatan yang terlalu lama dapat menyebabkan darah didaerah ikatan hemo-konsentrasi. Demikian pula genggamannya jari penderita harus segera dibuka begitu darah masuk kedalam syringe.

14. Hisapan di lanjutkan pelan-pelan, lebih disarankan sekuat darah keluar sehingga kita tidak perlu menarik dengan tenaga tambahan. Tusukan yang mencapai vena dengan arah dan kedalaman yang tepat akan menyebabkan tarikan hisapan terasa ringan.
15. Bila kita sudah mendapatkan darah sesuai kebutuhan pemeriksaan yang dikehendaki, tourniquet dilepas luka tusukan ditekan perlahan dengan kapas yang bersih dan kering, kemudian jarum dilepas dengan gerakan yang langsung, cepat dan arah yang berlawanan dengan arah tusukan semula.
16. Pasien di minta menekan luka tusukan dengan bulatan kapas kering sampai perdarahan berhenti. Dapat pula dengan mengangkat lengan ke atas lebih tinggi dari pada letak jantung.
17. Segera setelah bantuan di berikan kepada penderita untuk menghentikan perdarahan, jarum dilepaskan dari syringe lalu darah dimasukkan perlahan kedalam botol. Bila pemeriksaan yang diharapkan harus memakai antikoagulan, maka begitu darah segera digoyang-goyang sampai bercampur dengan antikoagulan dikutip dari (Soetopo, 2000) dalam (Rohmawati, 2012).
18. Darah yang berhasil di dapat kemudian masukkan tabung reaksi yang tidak terdapat anti koagulan, agar darah dapat membeku.
19. Kemudian centrifuge darah dengan kecepatan 2500rpm, tunggu hingga bunyi berhenti pada centrifuge.
20. Kemudian ambil serum menggunakan pipet dan masukkan pada 10 tabung reaksi. Lakukan hal yang sama hingga 30 tabung.

21. Setelah serum di masukkan pada tabung reaksi lakukan pengambilan spesimen atau koloni jamur pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) dengan cara, steril ose bulat pada api bunsen lalu dinginkan.

3.6.2.9 Penanaman Koloni Jamur pada *Germ Tube*

1. Siapkan bahan dan alat yang di gunakan kemudian steril ose bulat pada api Bunsen tunggu hingga dingin lalu ambil koloni jamur pada media *Dextrose Sabaroud Agar* (SDA) kemudian celupkan pada serum yang terdapat pada tabung reaksi. Tunggu hingga 3 jam
2. Lalu amati dengan mikroskop pembesaran 40 x (Arayu dkk, 2008).

3.7 Tabulasi Data

Metode analisa data yang dilakukan adalah statistika deskriptif yang menghitung persentase pada wanita lansia penderita diabetes mellitus yang urinenya terdapat jamur *Candida albicans* dan yang tidak terdapat jamur *Candida albicans*

Contoh Tabel Hasil Pemeriksaan ada tidaknya jamur *Candida albicans*

Tabel 3.1 Contoh Tabulasi Data Hasil Pemeriksaan

Nomor Urut	Kode Sampel	Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>		
		Hasil uji pada penanaman Media Dextrose Sabaroud Agar (SDA)	Hasil uji pada penanaman Media Gula - gula	Hasil uji pada penanaman Media <i>Germ Tube</i>
		(+/-)	(+/-)	(+/-)
1.				
Dst				
30.				
Σ				

Keterangan :

Positif, (+) : Ada jamur *Candida albicans*

Negatif, (-) : Tidak Ada jamur *Candida albicans*.

