

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian deskriptif dengan desain *cross-sectional* yang bertujuan untuk mengetahui prevalensi kandiduria pada penderita Diabetes melitus Tipe 2 Di RSUD Prof. Dr. W.Z. Johannes Kupang.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian dan pengambilan sampel akan dilakukan Di RSUD Prof. Dr. W Z Johannes Kupang.

Tempat pemeriksaan Di Laboratorium Bakteriologi D-III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kupang.

2. Waktu Penelitian

Penyusunan proposal dilaksanakan pada bulan Agustus sampai November 2025.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2026. Waktu pengambilan dan pengukuran sampel pada bulan Mei 2026.

C. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah variabel tunggal yaitu jamur *Candida sp.* pada urin penderita Diabetes melitus Tipe 2.

D. Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua pasien yang terdiagnosa Diabetes melitus Tipe 2 yang melakukan pemeriksaan Di RSUD Prof. Dr. W Z Johannes Kupang

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah 35 sampel urin dari semua pasien Diabetes melitus Tipe 2 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang hadir selama periode penelitian.

3. Teknik Sampling

Penelitian ini menggunakan *Purposive Sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel dengan pertimbangan tertentu berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

- a. Kriteria inklusi: 1). Bersedia menjadi responden dalam penelitian yang dinyatakan dengan *informed consent*; 2). Pasien dengan diagnosis Diabetes melitus Tipe 2; 3). Pasien yang berusia diatas 18 tahun; 4). Bersedia memberikan sampel urin *midstream* untuk

pemeriksaan laboratorium; 5). Menjalani pengobatan di RSUD Prof.

Dr.W Z Johannes Kupang selama periode penelitian.

- b. Kriteria Eklusi: 1). Pasien yang sedang mengonsumsi obat antijamur dalam 14 hari terakhir; 2). Memiliki riwayat infeksi saluran kemih bakteri akut yang sedang mendapatkan terapi *antibiotic*; 3). Sedang hamil; 4). Pasien yang sedang menstruasi; 5). Penggunaan kateter urin dalam waktu lama (lebih dari 7 hari).

E. Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
<i>Candida sp.</i>	<i>Candida sp.</i> yang dapat diidentifikasi pada sampel urin penderita Diabetes melitus Tipe 2 melalui pemeriksaan laboratorium.	Sedimen diinkubasi pada media SDA selama 24-48 jam hingga tampak koloni seperti koloni <i>Candida sp.</i> , Kemudian dilakukan pewarnaan gram untuk mendeteksi pertumbuhan jamur yang dicurigai sebagai <i>Candida sp.</i> (Mutiawati, 2016).	a.Makroskopis :Mata (Observasi langsung) b.Mikroskopis: Mikroskop	a.Positif (+) Makroskopis: Koloni tampak berwarna putih kekuningan, berbau asam, koloni berbentuk ragi, permukaan koloni basah dan cembung; Mikroskopis: menunjukkan gram positif, adanya sel ragi (<i>blastospora</i>), pseudohifa berbentuk oval dominasi warna ungu b.Negatif (-) Makroskopis: Tidak ada koloni Mikroskopis : Tidak menunjukkan ragi/pseudohifa.	Nominal

Diabetes melitus Tipe 2	Pasien Diabetes melitus Tipe 2 yang sedang menjalani pemeriksaan di RSUD Prof. Dr. W Z Johannes Kupang	Identifikasi melalui formulir pemeriksaan	Formulir pemeriksaan pasien	Tipe 2 (sesuai diagnosis)	Nominal
Usia	Umur pasien terhitung sejak kelahiran hingga waktu penelitian	Identifikasi melalui formulir pemeriksaan	Formulir pemeriksaan pasien	Dalam tahun (misalnya: 45 tahun)	Rasio
Jenis Kelamin	Jenis kelamin pasien yang tercatat pada rekam medis	Identifikasi melalui formulir pemeriksaan	Formulir pemeriksaan pasien	Laki-laki / Perempuan	Nominal
Lama menderita DM Tipe 2	Waktu yang telah berlalu sejak pasien pertama kali didiagnosis DM tipe 2	Rekam medis	Formulir data/rekam medis	Jumlah tahun (misalnya: 1 tahun)	Rasio
Perilaku sehari-hari	Kebiasaan sehari-hari yang berhubungan dengan risiko terjadinya kandiduria.	Pengisian kuisioner	Kuisioner	Baik, Cukup, Kurang.	Ordinal

F. Prosedur Penelitian

1. Tahap Perencanaan

- a. Mengidentifikasi masalah dan latar belakang
- b. Melakukan observasi lokasi
- c. Penyusunan, revisi, dan seminar proposal
- d. Mengurus kode etik penelitian
- e. Mengurus surat ijin penelitian

2. Tahap Pelaksanaan

Pra Analitik

1. Persiapan alat dan bahan

a) Alat

Alat yang digunakan adalah lampu spiritus/bunsen, jarum ose bulat, mikroskop, tabung reaksi, rak tabung, neraca analitik, gelas ukur, *stirrer*, *autoclave*, *sentrifuge*.

b) Bahan

Menurut (Nurfadillah *et al.*, 2021) prosedur Pemeriksaan jamur dengan menggunakan media *Sabouraud Dekstroza Agar* :

1. Mempersiapkan peralatan serta bahan yang diperlukan.
2. Menimbang SDA sebanyak 6,5 gr.
3. Menambahkan 100 ml aquades.
4. Memanaskan di atas *hot plate* dan diaduk hingga mendidih.

5. Mensterilisasi media menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C.
6. Menambahkan antibiotik kloramfenikol ke dalam media setelah proses sterilisasi selesai oleh karena itu, menuangkan antibiotik diharuskan secara aseptik atau dengan api spiritus supaya tidak terjadi pencemaran kontaminasi.
7. Penambahan antibiotik sejumlah 1% atau 1 ml dalam 100 ml media. Volume cukup untuk menekan perkembangan bakteri pada media.
8. Menuangkan media SDA ke dalam cawan petri.
9. Homogenkan media dalam cawan petri dengan tujuan supaya merata.
10. Membiarkan media pada cawan petri membeku sempurna
11. Memasukkan media dengan posisi terbalik pada inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C untuk uji kualitas pada media.

2. Persiapan Sampel

a) Persiapan pasien

1. Informasikan kepada pasien bahwa urin akan digunakan untuk pemeriksaan kultur jamur (*Candida sp.*).
2. Pastikan pasien telah menandatangani *informed consent* (jika diperlukan).

3. Instruksikan pasien untuk buang air kecil dahulu sebagian (untuk *midstream*) dan membersihkan area genital, bersihkan dengan air mengalir atau antiseptik ringan jika tersedia.
4. Sediakan wadah steril bertutup ulir yang telah diberi label nama, nomor rekam medis, tanggal dan jam pengambilan.

b) Pengambilan Urin *Midstream (Clean-Catch)*

1. Minta pasien memulai aliran urin lalu buang sebagian awal uretra (sekitar 3–5 detik).
2. Setelah aliran terbuang sebagian, tempatkan wadah steril untuk menampung bagian tengah aliran urin (*midstream*) hingga volume minimal misalnya 10-20 mL.
3. Tutup wadah segera setelah pengambilan dan pastikan tidak menyentuh bagian dalam wadah atau tutup
4. Catat tanggal & jam pengambilan pada label wadah.

c) Penanganan & Penyimpanan Spesimen

1. Setelah pengambilan dilakukan, simpan pada wadah. Pastikan wadah tidak bocor, tidak ada material asing, label terbaca.
2. Bila pemeriksaan kultur akan dilakukan ≤ 2 jam dari pengambilan, kirim langsung ke laboratorium.
3. Bila pemeriksaan tertunda > 2 jam, simpan spesimen pada suhu 2–8 °C (kulkas) hingga maksimal 48 jam. Hindari suhu ruang terlalu lama karena risiko pertumbuhan kontaminan.

4. Gunakan pengawet seperti *boric acid*) untuk kultur spesifik bila diperlukan (Ben-David *et al.*, 2024).

d) Transport sampel

1. Masukkan wadah ke dalam kantong biohazard tertutup yang memiliki bantalan penyerap untuk mengantisipasi kebocoran.
2. Tempatkan formulir permintaan laboratorium di luar kantong (tetapi tetap bersama paket).
3. Masukkan urin ke dalam tabung kultur urin
4. Gunakan *cooler box* atau *cold-pack* jika terjadi penundaan karena jarak antar-fasilitas lama atau suhu pengiriman tidak terjamin (Ganju *et al.*, 2019)
5. Dokumentasikan jam pengiriman dan waktu tiba di laboratorium untuk catatan pre-analitik.
6. Segera setelah tiba di laboratorium, lakukan pemeriksaan kultur sesuai metode (termasuk penanaman pada media SDA).

Analitik

Menurut (Muhajir *et al.*, 2020), prosedur pemeriksaan jamur dengan menggunakan media *Sabouraud Dextrosa Agar* dan pewarnaan gram :

1. Memasukkan sedimen urin pada media.
2. Menginkubasi media pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

3. Mengamati adanya koloni dan mengidentifikasi koloni yang tumbuh di bawah mikroskop, jika terdapat koloni jamur, lanjutkan dengan pewarnaan gram
4. Siapkan kaca objek bersih.
5. Teteskan 1–3 ose NaCl fisiologis ke tengah kaca objek.
6. Ambil koloni jamur *Candida sp.* dengan ose steril, campurkan ke dalam NaCl.
7. Ratakan hingga membentuk smear tipis.
8. Keringkan di atas nyala api dan fiksasi sebanyak 3 kali
9. Letakkan kaca objek di atas rak pengecatan
10. Teteskan 1–2 tetes cat gram A, biarkan 1 menit lalu bilas dengan air mengalir
11. Teteskan 1–3 tetes cat gram B, biarkan 1-2 menit lalu bilas dengan air mengalir
12. Teteskan 1–3 tetes cat gram C, biarkan 30 detik lalu bilas dengan air mengalir
13. Teteskan 1–3 tetes cat gram D, biarkan 1 menit lalu bilas dengan air mengalir
14. Keringkan sediaan pada kaca objek
15. Amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x (*oil immersion*)

Pasca Analitik

Mengidentifikasi dan menganalisis hasil setelah dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop.

1. Positif (+)

Makroskopis : Tumbuh koloni khas *Candida sp.* pada media SDA (Koloni berwarna putih kekuningan, berbau asam, koloni berbentuk ragi, permukaan koloni basah dan cembung).

Mikroskopis : Pewarnaan Gram menunjukkan Gram positif, adanya sel ragi (*blastospora*), *pseudohifa* berbentuk oval dominasi warna ungu.

2. Negatif (-)

Makroskopis : Tidak ada pertumbuhan koloni jamur pada SDA setelah masa inkubasi.

Mikroskopis : Pewarnaan Gram tidak menunjukkan bentuk ragi/pseudohifa, hanya elemen lain atau bening.

Tahap Akhir

1. Mencatat dan melakukan perhitungan
2. Menganalisa hasil penelitian
3. Membuat laporan hasil penelitian dan buku Karya Tulis Ilmiah

G. Analisis Hasil

Dalam penelitian ini, analisis data dilakukan dengan menggunakan metode tabulasi. Tabulasi adalah suatu proses penyusunan data dalam bentuk tabel. Tahap lanjutan pada proses analisis data yaitu tabulasi, sehingga proses tabulasi dianggap data sudah selesai diproses. Setiap jenis hasil identifikasi jamur dalam penelitian ini, hasilnya akan disajikan dalam bentuk tabel.