

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah survei deskriptif, yaitu suatu penelitian yang dilakukan untuk menggambarkan atau mendeskripsikan suatu keadaan yang diamati untuk mengetahui adanya jamur penyebab *Tinea unguium* pada kuku kaki penambang emas lokal di desa Muara Laung kecamatan Laung Tuhup.

3.1.2. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah *cross sectional* yaitu pengambilan sampel dan pemeriksaan dilakukan dalam satu waktu.

3.2. Populasi dan Besar Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah semua penambang emas lokal yang ada di Desa Muara Laung Kecamatan Laung Tuhup yaitu berjumlah 30 orang. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah total sampling yaitu dengan cara pengambilan sampel kerokan kuku kaki dan potongan kuku kaki penambang emas lokal dengan mengambil seluruh anggota populasi menjadi sampel.

3.3. Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1. Variabel

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur penyebab *Tinea unguium* pada kuku kaki Penambang Emas Lokal.

3.3.2. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Jamur penyebab <i>Tinea unguium</i> Pada kuku kaki penambang emas lokal	Ditemukannya jamur penyebab <i>Tinea unguium</i> jenis genus <i>T.rubrum</i> , <i>T.mentagrphytes</i> , dan <i>E.floccosum</i>	Pemeriksaan Laboratorium metode kultur SDA, kemudian di amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x	Positif (+) : Terinfeksi <i>Tinea unguium</i> Negatif (-) : Tidak Terinfeksi <i>Tinea unguium</i>	Nominal

3.4. Bahan Penelitian

Kerokan/potongan kuku penambang emas lokal yang di duga terinfeksi jamur, kertas hitam, plastik klip, kloramfenikol, *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB), *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan Alkohol 70%.

3.5. Instrumen Penelitian

Pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui infeksi *Tinea unguium*, alat yang diperlukan pada pemeriksaan Laboratorium berupa mikroskop, *object glass*, *cover glass*, pipet tetes, jarum ose, lampu spiritus, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan, batang pengaduk, *hot plate*, pipet ukur, koran, gunting kuku steril, ice box, ose, dan kertas hitam.

3.6. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.6.1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Desa Muara Laung Kecamatan Laung Tuhup dan Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Borneo Lestari.

3.6.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April 2024.

3.7. Prosedur Pengambilan Data

3.7.1. Izin Penelitian

Peneliti terlebih dulu harus meminta persetujuan dari para penambang emas lokal untuk melakukan pengambilan sampel sebagai *informed consent* (persetujuan tindakan). Untuk mendapat persetujuan, peneliti terlebih dahulu menanyakan izin untuk pengambilan sampel kerokan dan potongan kuku kaki dengan penambang emas lokal bersedia atau tidak. Setelah didapatkan persetujuan maka pengambilan sampel kerokan dan potongan kuku kaki dapat dilakukan.

3.7.2. Teknik Pengumpulan Sampel

Gunting kuku yang akan digunakan terlebih dahulu di desinfeksi dengan alkohol 70%. Kemudian sampel kerokan dan potongan kuku kaki di ambil menggunakan gunting kuku steril dari kuku kaki penambang emas lokal, kemudian sampel kerokan dan potongan kuku kaki dibungkus dengan kertas hitam, lalu dimasukkan ke plastik klip dan disimpan ke dalam ice box. Setelah prosedur

pengambilan kerokan kuku kaki dan potongan kuku kaki selesai, sampel di bawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Borneo lestari.

3.7.3. Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat

Dilakukan sterilisasi alat yang akan digunakan pada penelitian ini seperti cawan petri, pipet tetes, pipet ukur, erlenmeyer, jarum ose, gelas ukur, batang pengaduk, dengan tujuan membunuh mikroorganisme yang dapat mempengaruhi hasil pada penelitian. Sterilisasi dilakukan pada semua alat kaca menggunakan oven dengan suhu 180 °C selama 60 menit yang terlebih dahulu dibungkus koran atau alumunium foil.

2. Pembuatan Media SDA Untuk Kultur Jamur

- a. Menyiapkan alat dan bahan yang steril
- b. Menghitung media SDA untuk jumlah dan volume petri yang akan digunakan. Formula SDA adalah 65 gram/liter aquades. Jadi untuk membuat 1 liter/1000 ml media dibutuhkan sebanyak 65 gram serbuk medium SDA yang dilarutkan ke dalam 1 liter aquades.
- c. Menimbang bahan pada gelas arloji, setelah di timbang pindahkan ke erlenmeyer.
- d. Menambahkan aquadest sebagai pelarut, lalu panaskan hingga larut (mendidih) di atas api spiritus/ *hot plate*.

- e. Membungkus cawan petri kosong dengan koran, steril menggunakan *Autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm atau 2 atm.
- f. Mencampur serbuk pada kapsul kloramfenikol yang sudah di timbang sebanyak 100 mg/ 1 liter ke dalam erlenmeyer yang berisi SDA secara aseptik dengan ketentuan media SDA sudah tidak terlalu panas. Fungsi penambahan kloramfenikol adalah untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan mencegah terjadinya kontaminasi dengan mikroba sekitar.
- g. Menuangkan media dari erlenmeyer ke cawan petri dengan aseptik.
- h. Menunggu hingga media padat.
- i. Menyimpan media siap pakai pada suhu 2-8 °C.

3. Penanaman Pada Media SDA


- a. Melakukan penanaman sampel kerokan dan potongan kuku pada media SDA menggunakan metode sebar, yaitu inokulasi dengan cara menginokulasikan kultur secara pulasan/sebaran dipermukaan media agar yang telah memadat.
- b. Mengambil sampel kerokan dan potongan kuku secara aseptis.
- c. Menyebarkan pananaman sampel kuku di permukaan media SDA yang telah padat.
- d. Membungkus cawan petri menggunakan aluminium foil/koran, inkubasi selama 5-7 hari pada suhu 25-30 °C.


4. Prosedur Pemeriksaan

A. Pemeriksaan Kultur Menggunakan Media SDA Secara Makroskopik

- a. Mengambil media yang sudah diinkubasi.
- b. Mengamati warna permukaan koloni dan warna sebalik koloni, tekstur koloni yang dilihat merupakan aerial hipha (hifa udara), topografi koloni, dan tetesan eksudat yang merupakan titik-titik cairan yang terlihat pada permukaan koloni.
- c. Mencatat hasil yang didapatkan.

B. Interpretasi Hasil Makroskopik

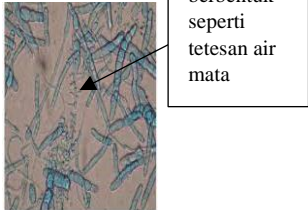
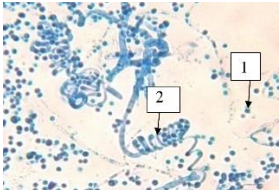

No	Interpretasi Hasil Makroskopik	Keterangan
1	 <i>Trichophyton rubrum</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Warna koloni : berwarna putih, terkadang kuning kemerahan. 2. Warna sebalik koloni : berwarna merah yang tidak merata. 3. Tekstur : <i>cattony</i> (seperti kapas). 4. Topografi : <i>rugose</i> (koloni yang memiliki alur-alur ketinggiannya tidak beraturan tampak merupakan garis radial dari <i>reverse side</i>). 5. Tetesan eksudat : yang merupakan titik-titik cairan yang terlihat pada permukaan koloni.
2	 <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Warna koloni : berwarna putih atau krem hingga kekuningan. 2. Warna koloni sebalik : membentuk pigmen berwarna coklat merah muda yang menjadi coklat merah tua dengan bertambah tuanya koloni. 3. Tekstur : <i>cattony</i> (seperti kapas) atau <i>powdery</i> (seperti tepung). 4. Topografi : <i>rugose</i> (koloni yang memiliki alur-alur ketinggiannya tidak beraturan tampak merupakan garis radial dari <i>reverse side</i>). 5. Tetesan eksudat : yang merupakan titik-titik cairan yang terlihat pada permukaan koloni.

3	 <p><i>Epidermophyton floccosum</i></p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Warna koloni : berwarna putih atau coklat kehijauan, meninggi dibagian tengah. 2. Warna koloni sebalik : koloni bagian bawah berwarna coklat kuning tua. 3. Tekstur : <i>cattony</i> (seperti kapas). 4. Topografi : <i>rugose</i> (koloni yang memiliki alur-alur ketinggiannya tidak beraturan tampak merupakan garis radial dari <i>reverse side</i>). 5. Tetesan eksudat : yang merupakan titik-titik cairan yang terlihat pada permukaan koloni.
---	--	--

C. Pemeriksaan Kultur Menggunakan Media SDA Secara Mikroskopik

- a. Menyiapkan biakan jamur pada *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) yang berada pada cawan petri.
- b. Membersihkan objek glass dan cover glass menggunakan tisu.
- c. Meneteskan 1-2 tetes reagen LPCB pada objek glass.
- d. Memfiksasi jarum ose di api bunsen tunggu sedikit dingin, lalu ambil koloni jamur pada sediaan SDA.
- e. Mengoleskan jarum ose yang sudah terdapat biakan pada objek glass secara memutar yang sudah di tetesi reagen LPCB.
- f. Menutup dengan *cover glass*.
- g. Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x10 dan 40x10.

D. Interpretasi Hasil Mikroskopis

No	Interpretasi Hasil Mikroskopik	Keterangan
1	 <p><i>Trichophyton rubrum</i> perbesaran 40x dengan pewarnaan LPCB</p>	<p>Mikrokonidia : Lonjong seperti tetesan air mata (piriform). Makrokonidia : Berbentuk seperti pensil (silindris) Hifa : Halus dan lurus</p>
2	 <p><i>Trichophyton mentagrophytes</i> perbesaran 40x dengan pewarnaan LPCB</p>	<p>Mikrokonidia : Bulat bergerombol seperti anggur. Makrokonidia : Berbentuk pensil Hifa : Melingkar atau berbentuk spiral</p>
3	 <p><i>Epidermophyton floccosum</i> perbesaran 40x</p>	<p>Mikrokonidia : Tidak ditemukan Makrokonidia : Berbentuk tongkat ganda Hifa : Lebar</p>

3.8. Pengumpulan Data

3.8.1. Data Primer

Cara pengumpulan data pada penelitian ini adalah secara primer, yaitu data yang diperoleh secara langsung dari para penambang emas lokal oleh peneliti dengan melakukan pemeriksaan jamur yang menginfeksi kuku kaki secara makroskopik dan mikroskopik.

3.9. Cara Pengolahan dan Data Analisa

3.9.1. Pengolahan Data

Dalam penelitian ini, setelah data terkumpul, data akan diolah baik secara manual maupun menggunakan komputer, kemudian dilakukan *editing* dari hasil pengamatan di lapangan, pemberian kode, data *entry* dan *cleaning*.

3.9.2. Analisa Data

Data yang di dapat dari hasil pemeriksaan kerokan kuku kaki dianalisa secara *deskriptif* berupa frekuensi nominal dan persentase (%) untuk melihat positif atau negatif terinfeksi *T.rubrum*, *T.mentagrophytes*, dan *E.floccosum*.

Dengan rumus:

$$N(\%) = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan : N = Nilai persentase kerokan kuku kaki yang positif

A = Jumlah sampel kerokan kuku kaki yang positif

B = Jumlah sampel kerokan kuku kaki di periksa