

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan bulan Oktober tahun 2014 di Laboratorium Instalasi Mikrobiologi Klinik (IMK) RSUP Haji Adam Malik Medan.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan yaitu *objek glass*, *deck glass*, kapas, cawan petri, pinset, skalpel, sensi glove, mikroskop, selotip, tip steril, lampu bunsen, hot plate, micropipet 100 μ l, tissue, tabung inokulum dan alat dokumentasi.

Bahan yang digunakan yaitu sampel kerokan kulit pasien balita pada bagian wajah, kepala, leher punggung, paha dan ketiak, reagensia KOH 10%, *Lactophenol Cutton Blue* (LCB), *emersi oil* dan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan secara deskriptif yaitu melakukan pemeriksaan dan pengamatan jenis cendawan pada kerokan kulit balita yang mengalami infeksi di RSUP Haji Adam Malik Medan dengan total 30 sampel. Pemeriksaan dilakukan menggunakan KOH 10% dan kultur cendawan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Data yang dihasilkan adalah jenis cendawan yang tumbuh selama inkubasi pada suhu kamar (25-30°C).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Spesimen

Spesimen diambil dari bagian kulit balita yang mengalami infeksi seperti lesi pada bagian kepala, leher dan bagian selangkangan. Sebelum spesimen diambil terlebih dahulu lesi dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70%. Bagian tepi lesi kulit yang aktif dikerok dengan scalpel tumpul steril, kemudian spesimen disimpan dalam cawan petri untuk dikultur dan dalam objek glass untuk pemeriksaan KOH.

3.4.2 Pemeriksaan Spora dan Hifa dengan KOH 10%

Pemeriksaan spora dilakukan dengan reagensia KOH 10%, identifikasi spesimen yang sudah dikerok dengan skalpel pada objek glass kemudian ditetesi KOH 10% dan ditutup dengan *deck glass*. Selanjutnya dilakukan pengamatan spora dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x dan 40x.

3.4.3 Pemeriksaan Kultur Cendawan

Pemeriksaan kultur cendawan yaitu spesimen yang sudah diambil di dalam cawan petri kemudian ditaburkan atau digoreskan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Biakan kemudian diinkubasi pada suhu kamar (25-30°C) dan dilakukan pengamatan setiap 1 x 24 jam untuk melihat jenis cendawan yang tumbuh selama masa inkubasi. Jika pada media terlihat adanya pertumbuhan cendawan maka dilakukan pemeriksaan morfologi secara makroskopis dan mikroskopis serta pengecatan dengan *Lactophenol Cotton Blue*. Kemudian diamati dibawah mikroskop pada permukaan slide. Hasil kultur dinyatakan negatif

jika dalam waktu pengeraman 1-2 minggu tidak adanya pertumbuhan cendawan pada media.

3.5 Identifikasi Cendawan

Identifikasi jenis-jenis cendawan dilakukan dengan mengelompokkan cendawan sesuai buku panduan lengkap identifikasi diagnostik cendawan. Data ditampilkan dalam bentuk tabel yang berisi jenis-jenis cendawan dan presentase. Prosedur identifikasi spesies dilakukan dengan membedakan ciri khas struktur mikroskopik cendawan (hifa, pseudohifa, blastospora, klamidospra, mikrokonidia dan makrokonidia). Pemeriksaan makroskopik juga dilakukan untuk mengidentifikasi spesies dermatofita dan nondermatofita. Pada pemeriksaan makroskopik yang harus diamati dari isolat yang tumbuh adalah morfologi koloni, warna koloni, permukaan koloni dan bentuk koloni.