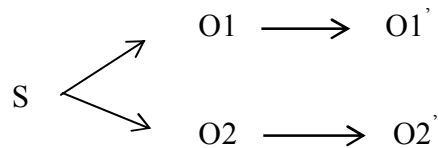


## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian intervensi atau uji klinis dengan *randomized controlled trial pre- & posttest design*. Studi ini mempelajari pengaruh vaksinasi BCG pada penderita rinitis alergi dengan menilai kadar IgE total dan gejala klinik.



#### 3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Bagian Alergi Klinik THT-KL Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang. Pengukuran kadar IgE total dilakukan di Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP. Waktu penelitian: April 2004 sampai Oktober 2005.

#### 3.3. Populasi dan Sampel

*Populasi penelitian:* penderita rinitis alergi.

*Sampel penelitian:* penderita rinitis alergi yang berobat ke Bagian Alergi Klinik THT-KL Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang selama periode penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi.

### 3.3.1. Kriteria Inklusi

1. Penderita rinitis alergi klasifikasi persisten derajat sedang-berat.
2. Hasil tes alergi (*skin prick test*) positif 3 atau lebih minimal terhadap satu alergen hirupan.
3. Pria atau wanita usia 15 – 50 tahun.
4. Bersedia menjadi sampel penelitian.

### 3.3.2. Kriteria Eksklusi

1. Sedang dalam pengobatan kortikosteroid.
2. Menderita penyakit TBC aktif, asma derajat sedang-berat, hipertensi.
3. Pernah mendapat imunoterapi.
4. Sedang hamil atau menyusui.
5. Terdapat septum deviasi, konka hipertrofi atau tumor kavum nasi yang mengganggu.
6. Respon tuberkulin (*Mantoux test*) positif.

### 3.3.3. Kriteria *drop-out*

1. Hamil selama periode penelitian.
2. Menderita rinitis karena infeksi.

### 3.3.4. Besar Sampel

Besar sampel untuk uji hipotesis terhadap rerata dua populasi adalah:<sup>40</sup>

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta) S}{(x_1 - x_2)} \right]^2$$

Keterangan:

$n_1, n_2$  : besar sampel masing-masing kelompok

$S$  : simpang baku dari selisih rerata

$x_1 - x_2$  : selisih rerata kedua kelompok yang bermakna

$\alpha$  : batas kemaknaan / kesalahan tipe 1

$\beta$  : kesalahan tipe 2

Menurut laporan penelitian Cavallo *et al.* (2002), rerata kadar IgE total sebelum perlakuan 269 kU/L dengan simpang baku 221 kU/L; rerata kadar IgE total sesudah perlakuan 210 kU/L dengan simpang baku 162 kU/L.<sup>41</sup> Dari data tersebut didapat ( $x_1 - x_2$ ) sebesar 59 kU/L; dan  $S$  sebesar 61,272 kU/L. Bila  $\alpha = 0,05$  dan power  $(1 - \beta) = 80\%$  maka  $Z_\alpha = 1,96$  dan  $Z_\beta = 0,842$ . Sesuai rumus besar sampel di atas didapatkan besar sampel tiap kelompok sebesar 16,8 (dibulatkan menjadi 17 orang). Bila *drop-out* diperkirakan 10%, maka besar sampel tiap kelompok yang diperlukan minimal 19 orang.

### 3.3.5. Cara Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan cara *consecutive sampling*. Pembagian sampel atas kelompok intervensi dan kelompok kontrol dilakukan secara acak dengan menggunakan tabel random.

### 3.4. Variabel Penelitian

- a. *Variabel bebas*: vaksinasi BCG.
- b. *Variabel tergantung*: kadar IgE total dan skor gejala klinik rinitis alergi.
- c. *Variabel pengaruh*: usia, lama sakit dan riwayat alergi keluarga.

### 3.5. Bahan dan Alat

1. Bahan dan alat untuk tes alergi (*skin prick test*): seri ekstrak alergen hirupan buatan LAPI Jakarta untuk tes alergi; larutan histamin untuk kontrol positif 3; larutan bufer fosfat untuk kontrol negatif; lanset. Larutan histamin, larutan bufer fosfat dan ekstrak alergen masing-masing dicukitkan pada bagian polar lengan bawah dengan menggunakan lanset. Setelah 15-30 menit dilakukan pembacaan hasil tes. Bila diameter indurasi kulit yang timbul pada cukitan ekstrak alergen sama dengan diameter indurasi pada cukitan histamin maka diberi skor 3+, bila lebih besar diberi skor 4+, bila sebesar diameter pada cukitan larutan bufer atau kurang diberi skor 0, bila besarnya di antara indurasi pada histamin dan bufer diberi skor 1+ atau 2+.
2. PPD RT 23 buatan Biofarma Bandung untuk tes respon tuberkulin (*Mantoux test*).
3. Vaksin BCG kering mengandung kuman hidup dari biakan *Bacillus Calmette & Guerin* Institut Pasteur Paris No. 1173 P2 buatan Biofarma Bandung. Sebelum digunakan vaksin dilarutkan dengan 4 ml pelarutnya (larutan NaCl fisiologis). Konsentrasi vaksin setelah dilarutkan adalah 0,375 mg/ml.

4. Spuit 1 ml dengan skala untuk tes tuberkulin dan untuk vaksinasi BCG.
5. Vacutainer untuk menampung sampel darah untuk pemeriksaan kadar IgE total.
6. Spuit 5 ml untuk mengambil sampel darah untuk pemeriksaan kadar IgE total.
7. Human IgE ELISA kit untuk pemeriksaan kadar IgE total. Pada penelitian ini digunakan Human IgE ELISA kit buatan Diagnostic Automation, Inc.
8. Buku untuk registrasi.
9. Formulir persetujuan (*informed consent*) menjadi subyek penelitian.
10. Tabel random.
11. Kuisisioner untuk pengumpulan data penderita.
12. Formulir pencatatan skor gejala klinik harian. Satu lembar formulir berlaku untuk 7 hari.
13. Obat yang mengandung kombinasi dekongestan dan antihistamin.

### **3.6. Cara Kerja**

1. Penderita dengan gejala klinik rinitis alergi yang dirujuk ke Bagian Alergi Klinik THT-KL Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang dilakukan tes alergi (*skin prick test*) bila memenuhi persyaratan untuk dilakukan tes alergi (bebas obat kortikosteroid dalam 14 hari terakhir, bebas obat antihistamin dan oba-obat lain yang dapat mempengaruhi hasil tes alergi dalam 5 hari terakhir, tidak menderita penyakit kulit yang berat). Bila hasil tes menunjukkan +3 atau lebih minimal terhadap satu ekstrak alergen, menurut kriteria WHO termasuk rinitis alergi klasifikasi persisten derajat sedang-berat, usia penderita antara 15 – 50 tahun,

tidak sedang dalam pengobatan kortikosteroid, tidak menderita penyakit TBC aktif, asma berat dan hipertensi, belum pernah mendapat imunoterapi, tidak sedang hamil atau menyusui, dan tidak terdapat septum deviasi, konka hipertrofi atau tumor kavum nasi yang mengganggu, diberikan penjelasan tentang penelitian ini serta dimotivasi untuk ikut serta dalam penelitian ini sebagai sampel penelitian.

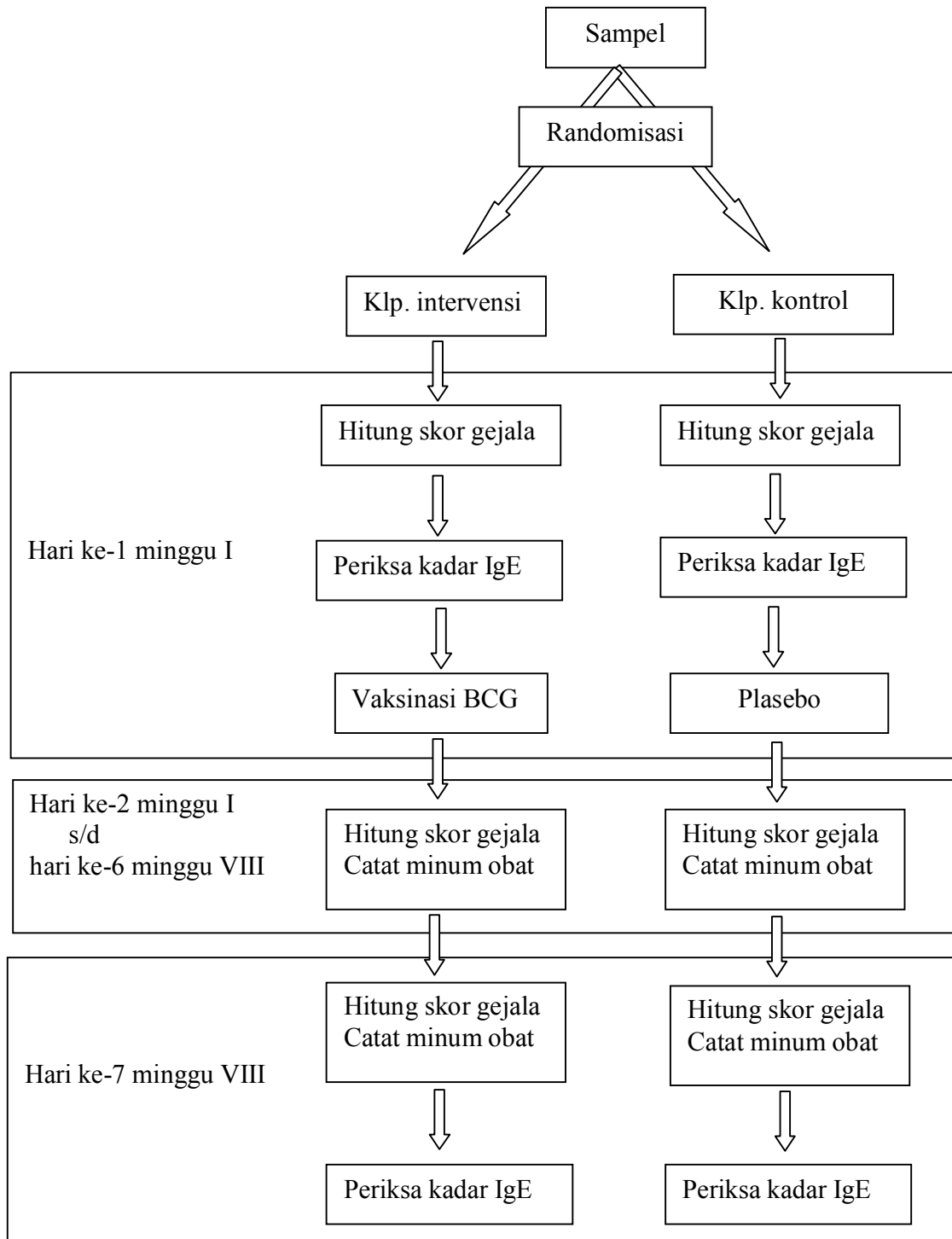
2. Penderita yang bersedia menjadi sampel penelitian memberi persetujuan secara tertulis (*informed consent*).
3. Terhadap penderita yang bersedia menjadi sampel penelitian dilakukan tes tuberkulin (*Mantoux test*), dengan jalan menyuntikkan 0,05 ml PPD RT 23 secara intrakutan di bagian polar lengan bawah. Respon tuberkulin dinilai 48 - 72 jam setelah pemberian suntikan. Respon tuberkulin negatif adalah bila diameter indurasi kurang dari 5 mm; *intermediate* bila diameter indurasi 5 - 10 mm; dan positif bila diameter indurasi lebih dari 10 mm. Penderita dengan respon tuberkulin negatif dan *intermediate* diambil sebagai sampel, sedangkan yang dengan respon positif tidak diambil sebagai sampel penelitian.
4. Penderita yang terpilih sebagai sampel penelitian dilakukan registrasi lengkap terhadap identitas penderita. Dengan menggunakan tabel random penderita dialokasikan apakah masuk kelompok perlakuan atau masuk kelompok kontrol. Penderita diajarkan cara memberi skor gejala klinik. Pemberian skor dilakukan setiap hari dan dicatat pada formulir yang telah disediakan yang bisa dibawa pulang. Pemberian skor harian ini dilakukan selama 8 minggu setelah perlakuan.

5. Dilakukan pengambilan sampel darah pertama untuk pemeriksaan kadar IgE total sebelum perlakuan. Sampel darah diambil dari vena kubiti menggunakan spuit sebanyak 4 ml, yang kemudian segera dipindahkan ke dalam *vacutainer*. Sampel darah segera dikirim ke Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP untuk disimpan hingga waktu dilakukannya pemeriksaan kadar IgE.
6. Setelah pengambilan sampel darah pertama, pada hari yang sama, bagi subyek penelitian yang masuk kelompok perlakuan diberikan vaksinasi BCG dengan jalan menyuntikkan 0,1 ml larutan BCG ( $2 \times 10^5$  CFUs) secara intrakutan di regio deltoideus. Bagi yang masuk kelompok kontrol diberikan suntikan 0,1 ml pelarut BCG secara intrakutan di regio deltoideus (sebagai plasebo).
7. Pada saat pulang penderita dibekali obat yang mengandung kombinasi dekongestan dan antihistamin (Nafarin<sup>®</sup>) dan diberikan penjelasan tentang cara penggunaan obat. Obat hanya boleh diminum apabila penderita tidak tahan terhadap gejala klinik rinitis alergi yang timbul. Sebelum minum obat terlebih dahulu dilakukan pemberian skor terhadap gejala klinik yang sedang dialami. Jumlah obat yang diminum dalam sehari ditulis pada tempat yang telah disediakan pada formulir skor gejala klinik.
8. Penderita dianjurkan kontrol kembali setiap minggu untuk melaporkan perkembangan penyakit, mengumpulkan formulir skor gejala klinik yang telah diisi dan untuk mengambil obat.
9. Pada hari terakhir minggu ke-8 dilakukan pengambilan sampel darah kedua untuk pemeriksaan kadar IgE total sesudah perlakuan. Teknik pengambilan sampel

darah kedua sama dengan sampel darah pertama. Sampel darah dikirim ke Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP untuk pemeriksaan kadar IgE total. Dengan diambilnya sampel darah kedua maka keikutsertaan penderita dalam penelitian ini sebagai subyek penelitian dianggap selesai.



### 3.7. Alur Penelitian



### 3.8. Etika

1. Dilakukan *informed consent*.
2. Penghentian sebagai subyek penelitian apabila timbul efek samping obat yang tidak dapat ditoleransi, atau pasien mengundurkan diri sebagai subyek penelitian.

### 3.9. Analisis Data

Analisis data menggunakan program SPSS, terdiri dari:

1. Deskriptif:
  - Variabel dengan skala kategorikal dinyatakan dalam distribusi frekwensi dan persentase.
  - Variabel dengan skala numerik dinyatakan dalam *mean* dan *median*, dan disajikan dalam bentuk tabel biasa, grafik boxplot dan grafik garis.
2. Uji statistik:
  - Menguji perbedaan kadar IgE total dalam kelompok dengan *Wilcoxon ranks signed test*, dan antar kelompok dengan *Mann-Whitney U test*.
  - Menguji perbedaan skor gejala klinik dalam kelompok dengan *Wilcoxon ranks signed test* dan antar kelompok dengan *Mann-Whitney U test*.
  - Perbedaan jumlah hari bebas gejala dan hari nyaman dan jumlah hari minum obat antar kelompok digunakan *Mann-Whitney U test*.
  - Uji korelasi antara kadar IgE total dengan skor gejala klinik dengan uji korelasi *Spearman*.
3. Nilai  $p \leq 0,05$  dianggap bermakna.

### 3.10. Definisi Operasional

- 1). Rinitis alergi klasifikasi persisten menurut WHO adalah rinitis alergi dengan gejala klinik lebih dari 4 hari per minggu, dan lebih dari 4 minggu.
- 2). Rinitis alergi derajat sedang-berat menurut WHO adalah rinitis alergi yang disertai satu atau lebih keadaan berikut: 1) gangguan tidur, 2) gangguan aktifitas sehari-hari, 3) gangguan pekerjaan atau sekolah, dan 4) gejala yang dirasakan mengganggu.
- 3). Asma berat adalah penyakit sistem pernafasan sebagai akibat meningkatnya respon broskus terhadap berbagai rangsangan dengan manifestasi klinik berupa sesak nafas, batuk dan nafas berbunyi, dan pada pemeriksaan fisik dan spirometri dijumpai tanda-tanda obstruksi saluran nafas bawah.
- 4). Septum deviasi, konka hipertrofi atau tumor kavum nasi dikatakan mengganggu dalam penelitian ini bila diluar serangan rinitis alergi tetap memberikan keluhan hidung tersumbat.
- 5). Gejala dan tanda rinitis karena infeksi yaitu terdapatnya keluhan pada hidung diikuti oleh peningkatan suhu badan di atas normal dan/atau ingus yang purulen.
- 6). Vaksinasi BCG pada penelitian ini adalah pemberian larutan vaksin BCG strain Paris No. 1173 P2 buatan Biofarma Bandung sebanyak 0,1 ml ( $2 \times 10^5$  CFUs) secara intradermal di daerah deltoideus.
- 7). Kadar IgE total dalam penelitian ini adalah kadar IgE darah yang diperiksa menggunakan metode ELISA dengan satuan IU/ml.

- 8). Skor gejala klinik rinitis alergi adalah pemberian nilai terhadap 4 gejala klinik rinitis alergi yaitu hidung gatal, bersin-bersin, hidung berair dan hidung tersumbat. Skor 0: tidak ada gejala klinik; skor 1: ada gejala klinik tetapi tidak mengganggu; skor 2: ada gejala klinik dan dirasakan mengganggu tetapi aktifitas sehari-hari dan tidur masih normal; skor 3: ada gejala klinik dan mengganggu aktifitas dan tidur. Skor total adalah jumlah nilai dari keempat gejala klinik rinitis alergi.
- 9). Hari bebas gejala adalah jumlah hari selama waktu penelitian dimana skor masing-masing gejala klinik rinitis alergi pada hari tersebut adalah 0.
- 10). Hari nyaman adalah jumlah hari selama waktu penelitian dimana skor tertinggi masing-masing gejala pada hari tersebut adalah 1.
- 11). Hari minum obat adalah jumlah hari selama waktu penelitian dimana penderita pada hari tersebut minum obat yang diberikan peneliti (kombinasi dekongestan dan antihistamin).
- 12). Riwayat alergi keluarga: ada tidaknya manifestasi penyakit alergi yang pernah terjadi pada orang-orang yang mempunyai hubungan darah dengan penderita.
- 13). Lama sakit: tenggang waktu mulai timbulnya gejala-gejala rinitis alergi hingga datang berobat ke klinik THT pada saat pelaksanaan penelitian ini, yang dihitung dalam satuan bulan.
- 14). Riwayat alergi lain: adanya manifestasi penyakit atopi selain rinitis alergi yang pernah diderita oleh penderita.