

BAB 3. METODA PENELITIAN

3.1. RUANG LINGKUP PENELITIAN

Ruang lingkup penelitian ini adalah Ilmu Kesehatan Telinga Hidung dan Tenggorok sub bagian Alergi dan Imunologi.

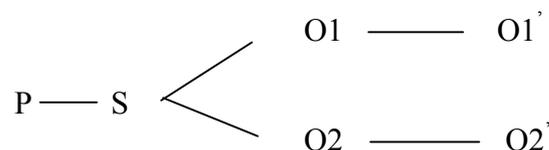
3.2. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Waktu penelitian : tahun 2004-2005.

Tempat penelitian : Klinik kesehatan THT-KL RSDK Semarang.

3.3. JENIS PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *randomized controlled trial pre& post test design*



3.4. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN

Populasi penelitian adalah penderita rinitis alergi.

Sampel penelitian ini adalah penderita rinitis alergi yang berobat ke klinik kesehatan THT-KL RSDK Semarang yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

3.4.1. Kriteria inklusi :

1. Penderita pria atau wanita berusia 15-50 tahun.
2. Penderita RA klasifikasi sedang berat dan persisten.

3. Penderita dengan hasil *skin prick test* positif 3 terhadap satu atau lebih aero-alergen dan harus ada *mite* positif.
4. Penderita yang belum menjalani imunoterapi.
5. penderita bebas obat kortikosteroid oral minimal dua minggu dan antihistamin oral minimal 5 hari.

3.4.2. Kriteria eksklusi :

1. Penderita dengan kelainan imun mis: SGB, AIDS, SLE.
2. Penderita yang menggunakan obat-obatan immunosupresif.
3. Penderita penyakit kronik dan inflamasi berat seperti asma berat
4. Penderita penyakit kardiovaskular. Mis: angina pektoris, IMA.
5. Penderita yang menggunakan beta bloker dan ACE inhibitors.
6. Penderita dengan kehamilan atau menyusui.

3.4.3. Kriteria drop out :

1. Penderita mengalami efek samping berat (sistemik) sehingga IT harus dihentikan sebelum 6 minggu
2. Bila penderita kemudian diketahui hamil dan IT dihentikan.
3. Bila penderita mengalami infeksi hidung yang tidak sembuh selama 1 minggu.
4. Bila penderita meninggal atau pindah rumah

3.4.4. Besar Sampel

Penghitungan besar sampel untuk masing-masing kelompok (kelompok intervensi dan pembanding) menggunakan³⁵ :

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

Keterangan :

n = besar sampel.

α = tingkat kemaknaan = 0,05.

$Z\alpha$ = 1,960. $Z\beta$ = 0,842

S = simpang baku respon terapi.

$x_1 - x_2$ = beda respon terapi.

Menurut laporan penelitian Choi SL dan Koh YI³⁶ dengan simpang baku 0,55 pg/ml, dan perbedaan kadar IL-4 = 0,5 pg/ml dianggap berarti, maka dengan $\alpha = 0,05$ dan power = 80% didapat $Z\alpha = 1,960$, $Z\beta = 0,842$, $S=0,55$, $x_1 - x_2 = 0,5$. Didapatkan jumlah sampel satu kelompok (n) sebesar 18,9 dibulatkan sebesar 19. Dengan perhitungan drop out 10%, maka jumlah sampel masing-masing kelompok kurang lebih 21.

3.4.5. Cara pengambilan sampel

Sampel diambil secara *purposive sampling*, dimana penderita RA yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi akan digunakan sebagai sampel. Pengambilan sampel akan dihentikan apabila jumlah sampel sudah mencukupi. Pembagian sampel atas kelompok intervensi dan pembandingan dilakukan secara acak menggunakan tabel bilangan random.

3.5. VARIABEL PENELITIAN

a) variabel bebas : dosis imunoterapi dosis eskalasi

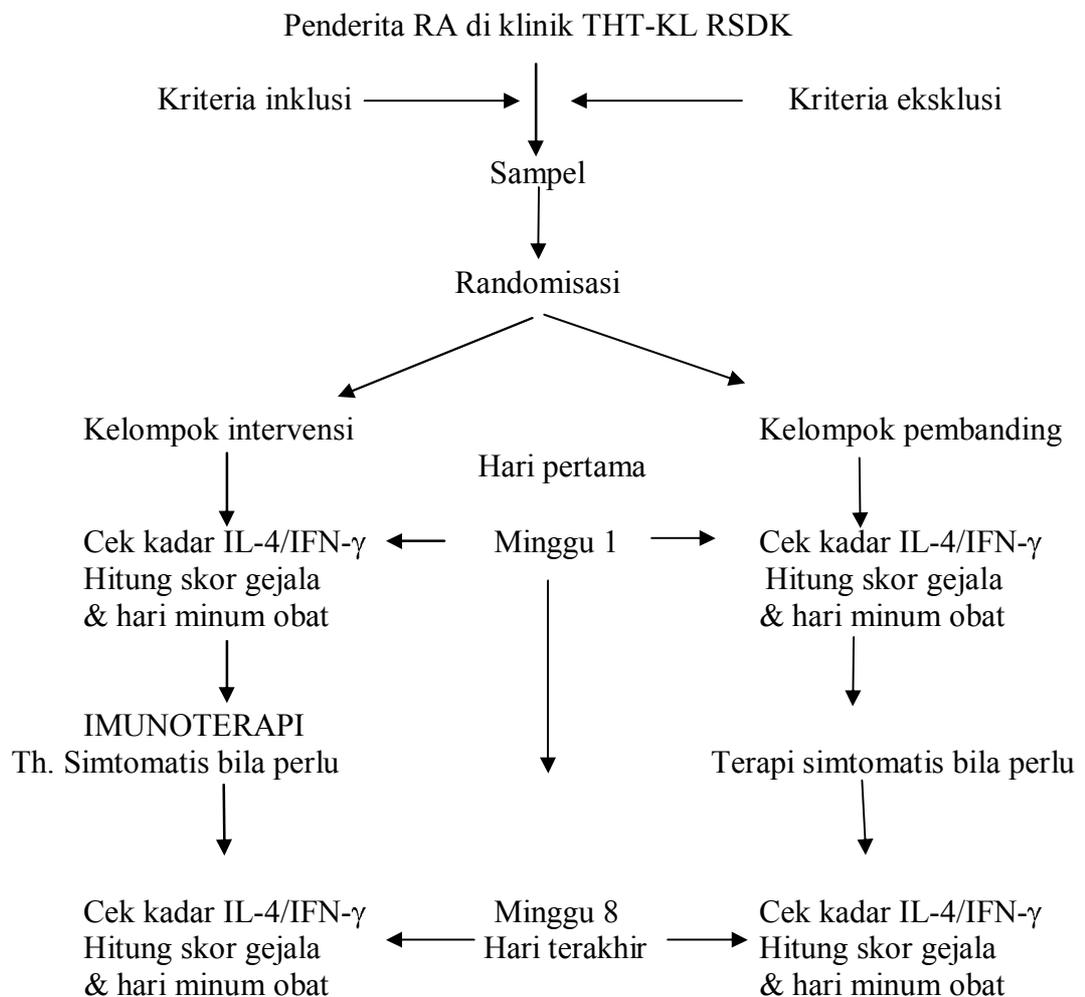
b) variabel tergantung : 1) kadar IL-4 dan IFN- γ (dalam pg/ml)

2) skor gejala total RA dan jumlah hari minum obat

Pengukuran kadar IL-4 dan IFN- γ dilakukan di Lab.GAKI dan Bioteknologi

FK UNDIP menggunakan metode ELISA dengan satuan pg/ml.

3.6. ALUR PENELITIAN



3.7. ETIKA

Etika penelitian yang dikerjakan :

- Penderita yang setuju menjadi obyek penelitian telah mengisi *informed consent*
- Penderita keluar dari penelitian apabila penderita menolak melanjutkan penelitian atau terdapat efek samping obat yang merugikan penderita.

3.8. BAHAN DAN ALAT

1. Ekstrak alergen untuk tes tusuk kulit buatan LAPI Jakarta dan ALK. Dikerjakan dengan cara intrakutan, yaitu dengan penyuntikan ekstrak alergen sehingga timbul bentol (wheal) dan eritema. Sebagai kontrol positif dipakai larutan histamin dan kontrol negatif dipakai larutan buffer fosfat yang merupakan pelarut alergennya. Reaksi histamin positif diberi skor (3+), buffer fosfat diberi skor (-). Berbagai macam alergen disuntikkan di regio volar lengan bawah, ditunggu 15 menit. Reaksi dibandingkan dengan kontrol (+) dan (-). Reaksi yang timbul sama dengan histamin diberi skor (3+), lebih besar dari histamin (4+), reaksi diantara keduanya diberi nilai (2+) dan (1+).
2. Imunoterapi yang dipakai adalah buatan ALK berisi campuran alergen dermatophagoides farinei dan dermatophagoides pteronisinus. Terdiri dari 4 vial yang berisi masing-masing : vial dengan label abu-abu berkekuatan 1:1000; vial dengan label hijau berkekuatan 1:100; vial dengan label kuning berkekuatan 1:10 serta vial dengan label merah berkekuatan 1:1. Vial disimpan dalam lemari es bersuhu 4°C sampai 8°C. Sebelum

dipergunakan harus dikocok terlebih dahulu. IT disuntikan di lengan atas sesuai dosis eskalasi. Sesudah disuntik, pasien harus menunggu selama 15-30 menit untuk melihat reaksi penyuntikan dan untuk mengetahui apakah ada reaksi anafilaksis.

3. Untuk mengukur kadar IL-4 dan IFN- γ digunakan *Pelikine Compact Human IL-4 dan Human IFN- γ kit*.
4. S spuit 5cc untuk mengambil darah vena dan spuit 1ml untuk menyuntikkan alergen.
5. Vacutainer untuk menampung darah vena
6. Lancet untuk melakukan tes tusuk kulit
7. Lembar penilaian tes alergi
8. Lembar kuesioner skor gejala klinik RA

3.9. CARA KERJA

1. Penderita yang datang ke klinik alergi dan sesuai dengan derajat sedang berat menurut kriteria WHO, dilakukan tes alergi. Apabila hasilnya 3+ atau lebih dan memenuhi kriteris inklusi dan eksklusi dimasukkan sebagai subyek penelitian.
2. Dengan menggunakan tabel random dibagi menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.
3. Pada tahap awal, untuk semua perlakuan dilakukan pengambilan darah vena sebanyak 5 cc untuk pemeriksaan IL-4 dan IFN- γ dan darah langsung dikirim ke laboratorium GAKI FK UNDIP. Selain itu dilakukan juga penghitungan skor gejala klinik berdasarkan panduan kuesioner.

Kuesioner dibagikan ke penderita untuk diisi setiap hari mengenai skor gejala klinik, dan skor minum obat.

4. Pada kelompok perlakuan dilakukan penyuntikan subkutan alergen dimulai dengan dosis 0,2 cc vial abu-abu kekuatan 1:1000. Pasien diminta datang seminggu dua kali untuk mendapat dosis eskalasi berikutnya. Pasien dibekali dengan obat simptomatis yang berisi antihistamin dan dekonjestan yang diminum jika gejala mengganggu.
5. Pada kelompok kontrol, hanya diberikan lembar kuesioner skor gejala klinik serta dibekali dengan obat simptomatis yang berisi antihistamin dan dekonjestan yang diminum bila gejalanya berat dan mengganggu. Pasien diminta datang satu minggu sekali.
6. Pada akhir penelitian, yaitu minggu ke delapan, kedua kelompok diambil lagi darah vena sebanyak 5 cc untuk mengukur kadar IL-4 dan IFN- γ dan dilakukan penghitungan skor gejala klinik setelah pengobatan.

3.10. ANALISIS DATA

- Persiapan data : 1. Data cleaning, 2. Data coding, 3. Tabulasi, 4. Data entri
- Analisis data menggunakan program SPSS yang terdiri dari :
 1. Analisis deskriptif
 - variabel dengan skala kategorikal dinyatakan dalam frekuensi dan%
 - variabel dengan skala kontinyu dinyatakan dalam median dan SD

2. Uji hipotesis

- Apabila distribusi normal menggunakan statistik parametrik yaitu menguji perbedaan kadar IL-4 , IFN- γ dan rasio IL-4/IFN- γ dalam kelompok dengan *paired t test* dan antar kelompok dengan *independent t test*.
 - Apabila distribusi tidak normal menggunakan statistik non parametrik yaitu menguji perbedaan kadar IL-4 , IFN- γ dan rasio IL-4/IFN- γ 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 perubahan gejala klinik 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*.
3. Analisis korelasi Spearman untuk melihat korelasi pengaruh imunoterapi dosis eskalasi terhadap perubahan rasio IL-4/IFN- γ .
4. Dianggap bermakna apabila $p < 0,05$

3.11. DEFINISI OPERASIONAL

1. Kriteria RA yang dipakai pada penelitian ini adalah menurut WHO.

Gejala RA adalah :

- hidung gatal
- bersin-bersin
- rinorea
- obstruksi hidung

2. Klasifikasi sedang berat RA menurut WHO 2001 adalah penderita dengan satu atau lebih gejala sebagai berikut :
 - Tidur terganggu
 - Aktifitas sehari-hari, olahraga dan santai terganggu
 - Bekerja atau sekolah terganggu
 - Terdapat keluhan yang mengganggu
3. Klasifikasi RA persisten menurut WHO 2001 adalah penderita RA dengan gejala :
 - > 4 hari per minggu
 - dan > 4 minggu
4. Skor gejala klinik :

Skor 0 : gejala tidak ditemukan

Skor 1 : gejala ada tapi tidak mengganggu

Skor 2 : gejala kadang-kadang mengganggu, tapi tidak mengganggu aktifitas dan tidur

Skor 3 : gejala mengganggu aktifitas dan tidur

Apabila skor tertinggi masing-masing gejala adalah 0 disebut hari bebas gejala. Apabila skor tertinggi masing-masing gejala adalah 1 disebut hari nyaman. Dikatakan ada serangan apabila skor gejala klinik salah satunya adalah 2. Dihitung jumlah hari minum obat pada tiap minggu selama penelitian dan dibandingkan pada kedua kelompok.
5. Vaksin yang digunakan adalah buatan ALK yang berisi: alergen *dermatophagoides farinei* dan *dermatophagoides pteronisinus*.

6. Dosis ITS yang digunakan :

Vial I (kekuatan 1:1000) = 0,2cc, 0,4cc, 0,8cc.	}	1 Mg 2 kali
Vial II (kekuatan 1:100) = 0,2cc, 0,4cc, 0,8cc.		
Vial III (kekuatan 1:10) = 0,2cc, 0,4cc, 0,6cc, 0,8cc.		
Vial IV (kekuatan 1:1) = 0,2cc, 0,4cc, 0,8cc	→	1 mg 1 kali

7. Penderita yang termasuk kriteria eksklusi apabila terdapat penyakit Acquired Immune Defesiency Syndrome (AIDS), Sindroma Guillain Barre (SGB), Sindroma Lupus Eritematosus (SLE), asma berat, angina pectoris, infark miokard akut, gagal jantung, gagal ginjal, hipertensi berat, hamil, menyusui, penderita keganasan, penderita kelainan psikologis berat.

- a. AIDS : penyakit yang disebabkan oleh virus HIV (Human Immunodeficiency virus) yang merusak sebagian dari sistem kekebalan tubuh manusia, sehingga orang yang terkena penyakit tersebut mudah terkena penyakit yang mematikan dan tidak lazim.
- b. SLE : penyakit radang multisistem yang sebabnya belum diketahui dengan perjalanan penyakit yang mungkin akut dan fulminan atau kronik dengan remisi dan eksaserbasi akut disertai oleh terdapatnya berbagai macam autoantibodi.
- c. Asma berat : penyakit dengan ciri meningkatnya respon trakea dan bronkus terhadap berbagai rangsangan dengan manifestasi sesak nafas, batuk dan nafas berbunyi dengan pemeriksaan fisik dan spirometri ada tanda-tanda obstruksi nafas.

- d. Angina pektoris: suatu sindrom klinis dimana terjadi sakit dada yang khas, yaitu seperti ditekan atau terasa berat di dada yang seringkali menjalar ke lengan kiri. Sakit dada timbul biasanya pada waktu melakukan aktifitas dan segera menghilang bila pasien beristirahat.
 - e. Infark Miokard Akut : nekrosis miokard akibat aliran darah ke otot jantung terganggu. Gejala berupa nyeri dada, pusing/keringat dingin.
 - f. Gagal jantung : keadaan dimana jantung tidak mampu lagi memompakan darah secukupnya dalam memenuhi kebutuhan sirkulasi badan untuk keperluan metabolisme jaringan tubuh pada keadaan tertentu, sedangkan tekanan pengisian ke dalam jantung masih cukup tinggi.
 - g. Gagal ginjal akut : penurunan tiba-tiba faal ginjal pada individu dengan ginjal sehat sebelumnya, dengan atau tanpa oliguria dan berakibat azotemia progresif disertai kenaikan ureum dan kreatinin darah.
 - h. Gagal ginjal kronik : penurunan faal ginjal yang menahun yang umumnya tidak reversibel dan cukup lanjut.
8. Umur dalam penelitian ini adalah umur subyek penelitian dalam tahun, dilakukan pengelompokan.
Skala pengukuran : ordinal.
9. Lama sakit dalam penelitian ini adalah lama sakit sebelumnya yang dinyatakan dalam satuan bulan.
Skala pengukuran : rasio.

10. Riwayat alergi lain dalam penelitian ini adalah adanya manifestasi penyakit atopi lain pada penderita sendiri atau keluarga. Yaitu: dermatitis alergi, asma alergi. Skala pengukuran : nominal.