

BAB 4

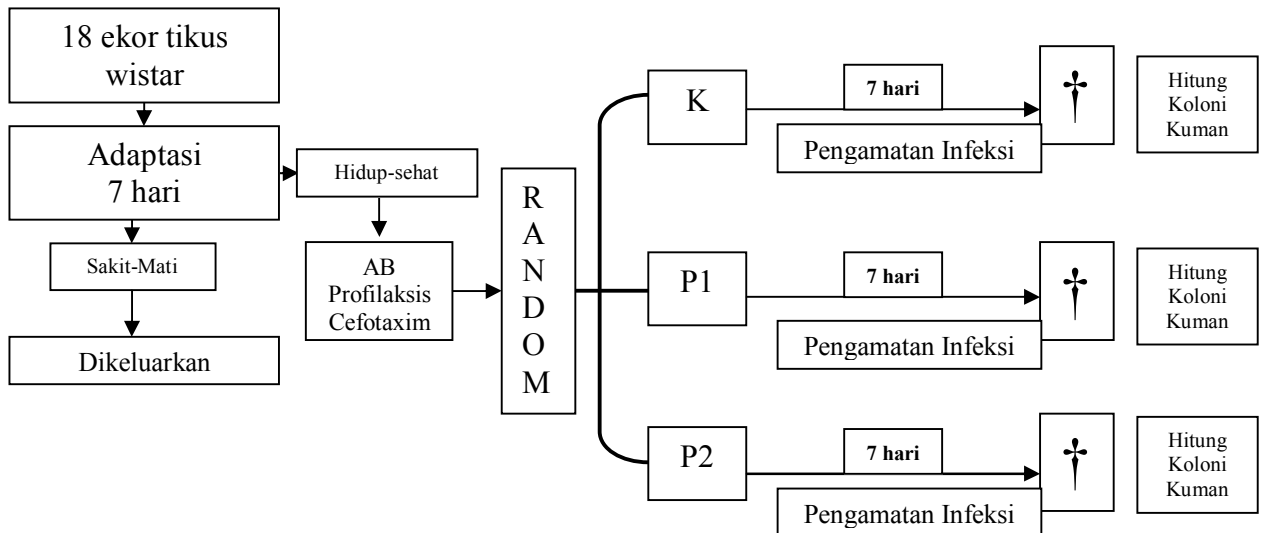
METODA PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain "*Post test only control group design*". Kelompok penelitian dibagi menjadi 3 yaitu kelompok Kontrol (K), Perlakuan 1 (P1) , Perlakuan 2 (P2) Adapun pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

- K : Kelompok kontrol, tikus diinsisi di daerah inguinal sampai fascia m. obliquus abdominis eksternus, dikontaminasi dengan cairan kontaminan dan dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian dilakukan *pure tissue repair* seperti cara Shouldice. Luka ditutup.
- P1 : Kelompok perlakuan 1, tikus diinsisi di daerah inguinal sampai fascia m. obliquus abdominis eksternus, dikontaminasi dengan cairan kontaminan dan dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian dipasang mesh monofilamen makropori ukuran 1x1 cm. Luka ditutup.
- P2 : Kelompok perlakuan 2, tikus diinsisi di daerah inguinal sampai fascia m. obliquus abdominis eksternus, dikontaminasi dengan cairan kontaminan dan dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian dipasang mesh multifilamen makropori ukuran 1x1 cm. Luka ditutup.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:



Keterangan: K = Kelompok Kontrol (*Pure tissue repair*)

P1 = Kelompok Perlakuan 1 (pasang mesh monofilamen makropori)

P2 = Kelompok Perlakuan 2 (pasang mesh multifilamen makropori)

Bagan 3. Skema Rancangan Penelitian

4.2. Sampel Penelitian

Hewan coba adalah tikus wistar, yang diperoleh dari Laboratorium Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Kriteria Inklusi:

- a. Tikus wistar keturunan murni
- b. Umur 3 bulan
- c. Jenis kelamin jantan
- d. Tikus aktif
- e. Berat badan 300-400 gram, setelah aklimatisasi.

Kriteria Eksklusi: Tikus sakit selama masa aklimatisasi

Besar sampel menurut WHO tiap kelompok minimal 5 ekor³⁵ dan perkiraan *drop-out* 10%, jadi pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan tiap kelompok adalah 6 ekor tikus wistar.

Randomisasi: 18 tikus yang sudah diberikan antibiotik profilaksis dikelompokkan secara random menjadi 3 kelompok yaitu:

Kelompok K : 6 tikus

Kelompok P1 : 6 tikus

Kelompok P2 : 6 tikus

4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 1 bulan. Perlakuan pada tikus, pengamatan infeksi dan proses pengambilan jaringan dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UNDIP. Proses hitung kuman dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UNDIP.

4.4. Variabel Penelitian

4.4.1. Variabel bebas

Sebagai variabel bebas adalah metoda hernioplasti: pemasangan macam mesh (makropori monofilamen dan makropori multifilamen) dan *pure tissue repair*.

4.4.2. Variabel tergantung

Sebagai variabel tergantung adalah :

4.4.2.1. Derajat infeksi pada luka

4.4.2.2. Hitung koloni kuman pada daerah repair (mesh & pure tissue)

4.4.3. Definisi operasional

1. Tehnik operasi hernioplasti yaitu pemakaian *mesh* makropori monofilamen, *mesh* makropori multifilamen, dan *pure tissue repair*

Skala variabel : Nominal

2. Derajat infeksi pada luka secara klinis, dihitung berdasarkan kriteria menurut Hulton dkk,³⁶ yaitu:

- a. Derajat 0: Tanpa tanda infeksi.
- b. Derajat 1: Eritema di pinggir dan sekitar luka kemudian meluas setelah 24 jam, tanpa cairan serous.
- c. Derajat 2: Eritema dengan cairan serous atau sanguinus dari luka.
- d. Derajat 3: Cairan purulen dari bagian luka tanpa pemisahan tepi luka.
- e. Derajat 4: Cairan purulen bercampur darah dari luka dengan pemisahan tepi luka.

Skala variable: Ordinal.

3. Hitung koloni kuman dihitung dengan cara *Spread-Plate* pada media *Nutrient Agar*.^{37,38}

Skala variabel : Rasio

4.5. Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan untuk perlakuan

Hewan coba adalah tikus wistar keturunan murni, dengan umur 3 bulan, dan berat 300 - 400 gram. Tikus diperoleh dari Laboratorium Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Selama percobaan, hewan coba ditempatkan pada kandang dan diberi pakan dan minum secara ad libitum. Sebelum perlakuan, tikus menjalani masa adaptasi selama 7 hari.

Cairan kontaminan dibuat dari biakan bakteri *E. coli* ATCC 25922 dengan konsentrasi 10^5 /ml dalam NaCl 0,9 % steril dan disimpan dalam lemari pendingin 5-8 °C dan dihindarkan dari cahaya.³⁹

Mesh yg digunakan adalah *mesh* makropori monofilamen (polypropylene mesh) dengan merek dagang Prolene mesh (*Ethicon*). Dan mesh makropori multifilamen (*braided polypropylene mesh*) yang diproduksi oleh *Surgipro*. Untuk kelompok *pure tissue repair* digunakan benang *polypropylene 5/0* untuk penjahitan fascia. Penjahitan subkutan dilakukan dengan plain catgut atraumatik 4/0, dan untuk penutupan kulit, penjahitan dilakukan dengan benang silk atraumatik 4/0.

Antiseptik yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah *Betadine antiseptic solution*. Antibiotik profilaksis yang diberikan pada penelitian ini adalah *cefotaxime* injeksi intramuskuler dengan dosis 25 – 50 mg/kg BB/12jam (pada manusia)⁴⁰ dengan menggunakan konstanta dosis konversi pada tikus sebesar $0,4 \times 25\text{mg} \times 0,082 = 0,82 \text{ mg}$ ⁴¹, dalam sekali pemberian intramuskuler, 2 jam sebelum operasi.

Bahan media :

- Media kultur *Nutrient Agar*
- NaCl 0,9%

4.5.2. Alat yang dipergunakan

Alat yang dipergunakan untuk implantasi mesh :

- Alat pencukur rambut
- Gagang bisturi
- Bisturi no.15
- Pinset chirurgical kecil 1 buah
- Pincet anatomis kecil 1 buah
- Pean bengkok kecil 2 buah
- Needle holder kecil 1 buah
- Gunting kecil
- Kassa dan plester hipoalergenik.

Alat maintenance, dan hitung kuman

- Cawan petri yang berisi media kultur *Nutrient Agar*
- Ose wire loop 1/400 cc dan ose jarum
- Pipet steril dan canister
- Lampu bunsen
- Inkubator
- Mikroskop
- Pipet/spuit pengencer
- Petri steril

- Tabung-tabung pengencer steril
- Bacterial counting
- Lemari Pendingin 5-8°C

4.6. Pelaksanaan Penelitian

Cara perlakuan

Tikus wistar sebanyak 18 ekor, diadaptasi di laboratorium Biokimia FK UNDIP dengan dikandangkan secara individual dan diberi ransum pakan standard selama 1 minggu secara ad libitum. Tikus yang mati atau menjadi sakit selama adaptasi dikeluarkan dari penelitian.

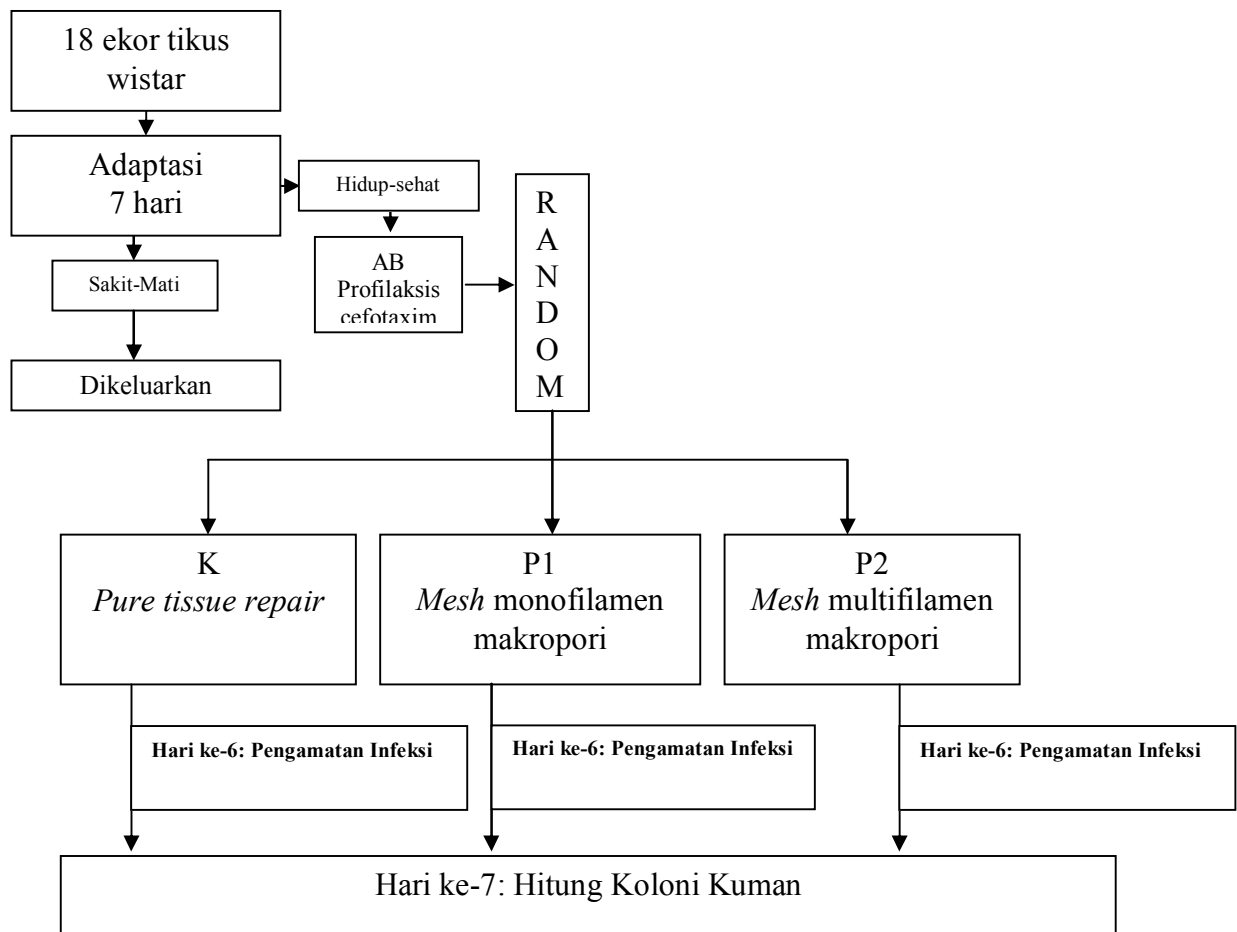
Tikus yang hidup sehat (aktif) diberi antibiotik profilaksis dengan cefotaxim sebanyak 0,82 mg intramuskuler (2 jam sebelum penanaman mesh), kemudian dirandomisasi secara sederhana ke dalam 3 kelompok.

Pemasangan *mesh* dilakukan dengan insisi di daerah inguinal tikus sepanjang 2 cm, setelah tikus dianestesi dengan ether. Dilakukan pembukaan aponeurosis m. obliquus abdominis eksternus. Setelah terbuka, luka dikontaminasikan dengan cairan kontaminan sebanyak 0,5 ml selama 20 menit⁴² dan luka diirigasi dengan NaCl 0,9% sebanyak 15 cc. Pada kelompok K dilanjutkan repair seperti metoda Shouldice, kemudian luka dijahit lapis demi lapis dengan *plain catgut* dan *silk 4/0*. Pada kelompok P1 dilanjutkan dengan pemasangan *mesh* makropori monofilamen, kemudian luka dijahit lapis demi lapis dengan *plain catgut* dan *silk 4/0*, dan kelompok P2 dilanjutkan dengan

pemasangan *mesh* makropori multifilamen, kemudian luka ditutup lapis demi lapis dengan *plain catgut* dan *silk 4/0*.

Hari ke-6 setelah perlakuan, luka diamati dan ditentukan derajat infeksi. Hari ke-7 tikus dibunuh, lalu dilakukan pengambilan *mesh* dan jaringan sekitar untuk selanjutnya dilakukan hitung kuman.

4.7. Alur Kerja



Bagan 4. Alur Kerja

4.8. Prosedur Pemeriksaan

4.8.1. Prosedur Pengambilan sampel jaringan

- a. Masing-masing Tikus diberi nomor ditelinganya (lihat bagan) dan dimasukkan ke dalam kandang berbeda yang diberi label berisi : jenis kelompok perlakuan, tanggal transplantasi
- b. Tujuh hari setelah dilakukan perlakuan, tikus dibunuh dengan cara dislokasi vertebra cervical. Luka operasi dibuka dan diambil jaringan tempat penjahitan/pemasangan mesh dengan menyertakan jaringan sekitar seberat 1 gram, kemudian digerus dan diencerkan dengan NaCl fisiologis 1 cc secara steril, cairan tersebut diambil dengan spuit yang diberi nomor dan kelompok perlakuan.

4.8.2. Prosedur penanaman di media kultur dan hitung kuman

- a. Dibuat pengenceran kuman dari cairan sampel tersebut dengan NaCl fisiologis masing-masing sebesar 1/10, 1/100, 1/1000. Kemudian masing-masing pengenceran tersebut dicampurkan ke dalam media *Nutrient Agar* yang telah dipanaskan 40-45° C, sampai terbentuk campuran homogen.
- b. Tuangkan media yang telah tercampur larutan kuman, ke dalam petri kosong steril, sambil digoyang-goyangkan supaya campuran merata sampai ke dasar cawan petri.
- c. Diamkan selama 30 menit, setelah beku masukkan ke inkubator 37°C selama 24 jam.

d. Dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dengan bacterial counting. Rumus penghitungannya :

→ Jumlah kuman = jumlah koloni x pengenceran.³⁸

4.9. Cara Mengumpulkan Data

Dari masing-masing kelompok dinilai derajat infeksi oleh dua orang penilai berdasarkan kriteria Hulton, dan dilakukan hitung kuman dengan metoda *Spread-Plate*.

4.10. Analisis Data

Data yang terkumpul diedit, di-*coding*, dan di-*entry* ke dalam file komputer, dilakukan *cleaning* kemudian data dianalisis secara statistik.

Untuk mendapatkan data derajat infeksi dilakukan penilaian oleh dua orang ahli dengan *clinical agreement* 90%.

Untuk perbedaan derajat infeksi dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney-U* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

Untuk menilai distribusi jumlah kuman dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk*. Karena distribusi datanya normal, dilanjutkan dengan uji *One-way Anova*. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan *Bonferroni test*.

Batas derajat kemaknaan adalah $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan. Analisis data dilakukan dengan software SPSS Ver. 10.0 for Windows.