

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup

Ilmu Bedah Onkologi

4.2. Waktu dan Tempat penelitian

Waktu: Agustus 2011- selesai

Tempat: 1.SMF Bedah RSUP. Dr. Kariadi Semarang

2.Instalasi rawat jalan RSUP. Dr. Kariadi Semarang

3.Laboratorium patologi klinik Universitas Gajahmada

Yogyakarta

4.3.Populasi

4.3.1 Populasi Target

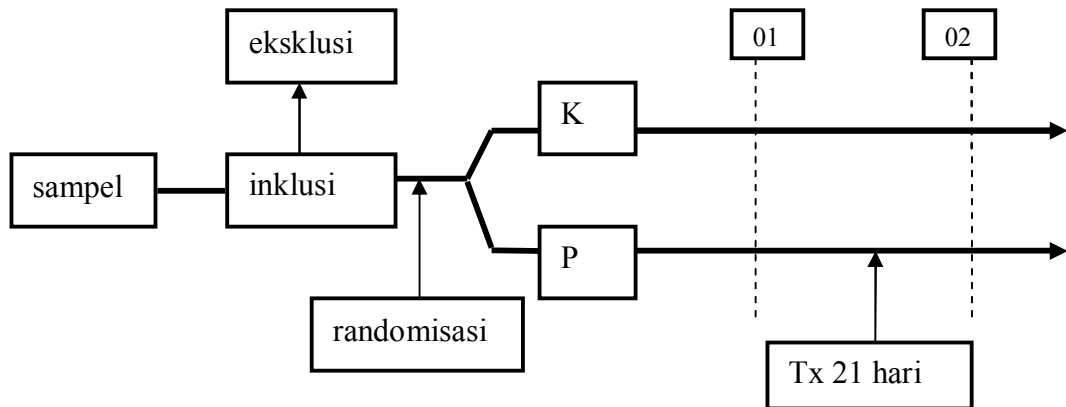
Pasien yang terdiagnosis kanker payudara di bagian Bedah RSUP. Dr. Kariadi Semarang

4.3.2 Populasi Studi

Pasien yang terdiagnosis karsinoma duktus invasif payudara std III B periode Agustus - Oktober 2011

4.4.Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *pre dan post test randomized controlled design*



Gambar 4. Bagan desain penelitian

Keterangan :

01 : diamati jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer

02 : diamati jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer

Tx : Pemberian EPA

K : Kelompok kontrol, pasien karsinoma duktus invasif yang diberi adriamycin dengan dosis 50 mg/m² dan cyclophosphamide dengan dosis 500 mg/m², fluorulasi 500 mg/m²

P : Kelompok perlakuan, pasien karsinoma duktus invasif yang diberi adriamycin dengan dosis 50 mg/m² dan cyclophosphamide dengan dosis 500 mg/m², fluorulasi 500 mg/m² diberi EPA dosis 75 gr/ 240 ml/saji 3 kali sehari selama 21 hari.

4.5 Sampel

Sampel penelitian ini adalah populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria sampel:

a) Kriteria inklusi:

1. Usia 15- 70 tahun
2. Pasien karsinoma mammae dengan stadium III B
3. Hasil histopatologi adalah karsinoma duktus invasif payudara
4. Mendapatkan kemoterapi regimen CAF siklus I

b) Kriteria eksklusi:

1. Pasien yang alergi terhadap pemberian EPA
2. Pasien kanker payudara dengan kelainan hepar

c) Kriteria *drop out*:

1. Pasien datang terlambat lebih dari 7 hari dari tanggal yang ditentukan untuk kemoterapi berikutnya.

BESAR SAMPEL

Besar sampel dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus :

$$N = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)}{d^2}$$

$Z_{1-\alpha}$ dengan *confidence interval* 95% = 1,96

d = tingkat ketepatan absolut = 0,25

Nilai P(1-P) didapat pada tabel rujukan adalah sebesar 0,25.

Besar sampel berdasarkan tabel dengan *confidence interval* 95% dan d sebesar 0,25 adalah sebanyak 20.³³

4.5.1. Randomisasi

Randomisasi dilakukan dengan cara *consecutive sampling* pada pasien-pasien yang berobat dalam periode Agustus - Oktober 2011.

4.6. Variabel Penelitian

Variabel bebas:

Pemberian EPA

Variabel tergantung :

Jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer

4.7 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Pengukuran	Skala variabel
1	Jumlah sel T CD8+	Jumlah sel T CD8+ yang diukur dalam kandungan darah menggunakan uji kuantitatif dengan <i>flowcytometry</i> sebelum dan setelah pemberian kemoterapi dan pemberian EPA	satuan sel/ l	Rasio

2	EPA	Suplemen mengandung Eicosapentaenoic acid (EPA) dalam sediaan berupa susu bubuk	75 gr/ 240 ml/saji	Nominal
---	-----	---	--------------------	---------

Gambar 5. Definisi Operasional.

4.8 .BAHAN DAN ALAT PENELITIAN

a). Bahan penelitian

1. Darah diambil dari vena perifer pasien sebelum dan sesudah kemoterapi serta pemberian EPA
2. Susu mengandung EPA yang diberikan setelah kemoterapi 3 kali/ hari selama 21 hari (75 g/ 240 ml/ saji)

b). Alat penelitian

1. Tabung *vacutainer* dengan antikoagulan K₃DTA
2. Tabung reaksi falcon 12X75 mm(bertutup)+beads
3. Mikropipet dan tip
4. BD antibody monoklon fluorokrom terkonjugasi
5. *Vortex mixer*
6. Larutan FACS pelisis sel 10 X
7. FACS *flowcytometer*

4.9. CARA KERJA

1. Pasien kanker payudara yang akan menjalani pengobatan dengan kemoterapi yang memenuhi kriteria inklusi dimasukkan sebagai subyek penelitian.
2. Pasien diambil darah vena dan diperiksa jumlah sel T CD8+ dalam darah sebelum kemoterapi.
3. Peserta diberikan susu yang mengandung EPA dan diminum selama 21 hari sejak hari pertama kemoterapi, kemudian diperiksa ulang jumlah sel T CD8+ darah vena perifernya.

Prosedur : pengambilan spesimen dan preparasi

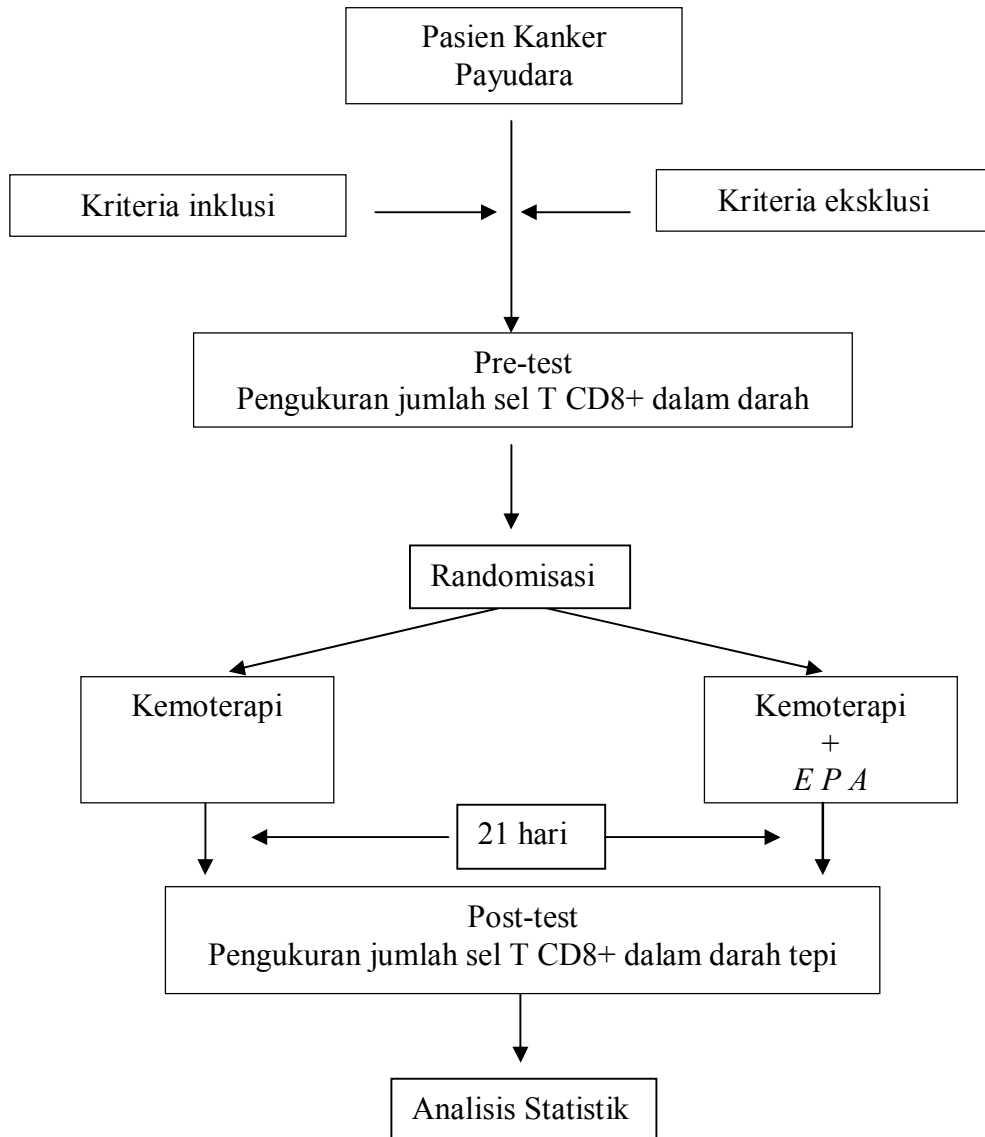
1. Dilakukan pengambilan sampel darah secara aseptik, kemudian sampel darah ditampung pada tabung vacutainer ber-antikoagulan K₃EDTA
2. Sampel darah siap diperiksa
3. Atau disimpan pada suhu kamar (20-25 ° C) maksimal 24 jam

Pelisisan dan pengecatan

1. Spesimen dipipet (*reversing*) ke dalam tabung falcon berisi beads sebanyak 50 L.
2. Ditambahkan 10 L reagen Tritest CD3 FITC/CD4 PE/ CD45 atau CD3 FITC/8+/ CD45 Per CP.
3. Dicampur homogen pada *vortex mixer*, kemudian diinkubasi 15 menit (20-25 ° C) pada ruang gelap.

4. Diencerkan 50 L larutan pelisis 10 x FACS dengan aquades sebanyak 450 L, kemudian dicampur homogen.
5. Setelah waktu inkubasi selesai , sampel ditambahkan 450 L reagen FACS (1 x) yang sudah diencerkan.
6. Dicampur homogen kemudian diinkubasi 15 menit (20-25 °C) pa da ruang gelap.
7. Setelah masa inkubasi selesai , dilakukan analisis menggunakan alat FACS *Flowcytometer*

4.9. ALUR PENELITIAN



Gambar 6. Alur Penelitian

4.10. ANALISIS DATA

Data hasil penelitian meliputi jumlah sel T CD8+ sebelum dan sesudah pemberian EPA dari kelompok kontrol dan perlakuan serta selisih jumlah sel T CD8+ sebelum dan sesudah perlakuan. Data disajikan dalam bentuk tabel. Sebelum dilakukan analisis dilakukan uji normalitas dengan Shapiro-Wilk³². Distribusi data yang tidak normal dilakukan transformasi data.

Perbedaan antar kelompok pre-test dan post-test dianalisis dengan *uji Wilcoxon signed rank test* sedangkan uji beda antara kelompok kontrol dengan perlakuan menggunakan *uji Mann - Whitney*. Semua uji hipotesis dilakukan pada $\alpha = 0,05$.

4.11. ETIKA PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS dr. Kariadi Semarang no.150/EC/FK/RSDK/2011, dan dimintakan persetujuan pasien (*informed consent*) setelah mendapatkan penjelasan mengenai penelitian ini. Responden tidak dibebani biaya tambahan untuk pengambilan data yang dibutuhkan peneliti.