

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup Penelitian

4.1.1. Lingkup Ilmu

Penelitian ini melingkupi Ilmu Imunologi, Penyakit Infeksi, dan Farmakologi.

4.1.2. Lingkup Tempat

Penelitian ini dilakukan pada pasien HIV rawat jalan dengan terapi ARV di Klinik Seroja Rumah Sakit Umum Daerah Gunung Jati Cirebon dan dilakukan pemeriksaan hasil di Laboratorium Patologi Klinik, Universitas Gadjah Mada Jogjakarta.

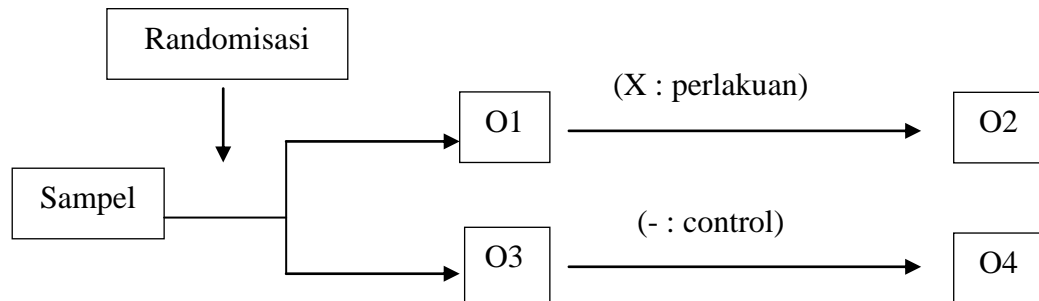
4.1.3. Lingkup Waktu

Penelitian ini akan dilakukan selama 30 hari di Klinik Seroja Rumah Sakit Umum Daerah Gunung Jati Cirebon.

4.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental *Double Blind Randomized Pretest-Post Test Control Group Design* pada manusia (pasien HIV rawat jalan dengan terapi ARV). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak kulit manggis (*Garciana Mangostana*), sedangkan variabel terikatnya adalah jumlah sel NK dan kadar sitokin IFN- γ pada penderita HIV dengan terapi ARV.

Skema 03. Pemilihan dan pengelompokan sampel



Keterangan:

O1: Kelompok perlakuan, diberikan EKM pada pasien HIV dengan terapi ARV dan dilakukan pre test

O2: Kelompok perlakuan, diberikan EKM pada pasien HIV dengan terapi ARV dan dilakukan post test

O3: Kelompok kontrol, diberikan placebo pada pasien HIV dengan terapi ARV dan dilakukan pre test

O4: Kelompok kontrol, diberikan placebo pada pasien HIV dengan terapi ARV dan dilakukan post test

4.3. Populasi dan Sampel

4.3.1. Populasi

1. Populasi target: pasien HIV yang sudah mendapatkan terapi ARV di Klinik Seroja Rumah Sakit Umum Daerah Gunung Jati Cirebon.
2. Populasi terjangkau: pasien rawat jalan dengan HIV di Klinik Seroja Rumah Sakit Umum Daerah Gunung Jati Cirebon.

4.3.2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah pasien rawat jalan dengan HIV di Klinik Seroja Rumah Sakit Umum Daerah Gunung Jati Cirebon.

4.3.2.1. Kriteria Inklusi

1. Umur 17-40 tahun
2. Bersedia menjadi responden dalam penelitian ini ditandai dengan menandatangani *Informed Consent*
3. Status Klinik: Tidak mempunyai Infeksi Oportunistik dan menerima pengobatan Infeksi Oportunistik dan Ko-Infeksi
4. Mendapatkan ARV minimal 6 bulan dan minum obat ARV secara teratur
5. Tidak mengkonsumsi obat imunostimulan dan antioksidan selama menjadi responden penelitian

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

1. Pasien yang mengundurkan diri sebelum penelitian ini selesai dilakukan sesuai dengan waktu yang sudah ditentukan.

4.3.2.3. Besar Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus:

$$n = \frac{2 (Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2 \delta^2}{\delta^2}$$

Keterangan:

n = Besaran sampel

$Z_{1-\alpha}$ = Simpangan rerata pada derajat kemakmuran Alpha (95% = 1,645)

$Z_{1-\beta}$ = Beta (power 80% = 0,842)

δ = Perkiraan simpang baku dari selisih rerata 30

δ = selisih rerata kelompok yang bermakna = 20α

€ sampel 13 per kelompok

Risiko drop out 50% perkelompok ditambah 7

Sampel dibagi dalam kelompok:

O1: kelompok perlakuan EKM pasien HIV dengan terapi ARV

O2: kelompok kontrol pasien HIV dengan terapi ARV

4.3.2.4. Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel dengan randomisasi dengan *simple randomized sampling* pada pasien yang berobat dalam periode Juni-Juli 2014.

4.4. Variabel Penelitian

4.4.1. Variabel Bebas

Pemberian kulit manggis (*Garciana Mangostana*)

4.4.2. Variabel Tergantung

Jumlah sel NK dan kadar IFN- γ

4.5. Definisi Operasional Variabel

Tabel 04. Definisi Operasional Variabel

| No | Variabel | Definisi | Pengukuran | Skala Variabel |
|----|--|---|--|----------------|
| 1. | Ekstrak kulit manggis (<i>Garciana Mangostana</i>) | Ekstrak kulit manggis terstandar dalam bentuk kapsul, yang diberikan kepada penderita HIV, sebanyak 400 mg x 2 kapsul | Bahan langsung dari produsen (PT. Sidomuncul, Semarang). Pengukuran dosis dengan Kalibrator timbangan (mg) | Nominal |

| | | | | |
|----|-----------------------------|---|---|-------|
| | | diminum 3 kali dalam sehari (6 x 400 mg = 2400 mg perhari) | | |
| 2. | Jumlah sel NK | Angka yang menunjukkan jumlahsel NK yang diukur dalam kandungan darah dengan satuan sel/ul | Darah vena diambil dari lengan sebanyak 5cc, dimasukan vacumtainer yang telah diberi EDTA, kemudian dipisahkan dan diambil serumnya. Serum darah ditambahkan reagen kit <i>flowcytometry</i> . Pengukuran dengan menggunakan <i>flowcytometry</i> dengan panjang gelombang nm. Yang diukur dengan alat <i>flowcytometry</i> produk USA, dengan tingkat ketelitian 0,01 dengan metode <i>flowcytometry</i> . | Rasio |
| 3. | Kadar sitokin IFN- γ | Angka yang menunjukkan kadar molekul sitokin IFN- γ total yang diukur dalam kandungan darah pasien HIV dengan satuan mol/l | Darah vena diambil dari lengan sebanyak 5cc, dimasukan vacumtainer yang telah diberi EDTA, kemudian dipisahkan dan diambil serumnya. Serum darah ditambahkan reagen kit <i>flowcytometry</i> . Melalui teknik pewarnaan sitokin intraselular dan dianalisis dengan tehnik <i>flowcytometry</i> . | Rasio |

4.6. Cara Pengumpulan Data

4.6.1. Bahan

- a. Sampel darah diambil dari vena pasien sebelum dan sesudah mendapat perlakuan (diberikan ekstrak kulit manggis/ *Garciana Mangsotana*) selama 20 hari.
- b. Ekstrak kulit manggis terstandar dalam bentuk kapsul @400 mg. Kelompok penelitian diberikan peroral kapsul ekstrak kulit manggis terstandar (mengandung 400 mg ekstrak kulit buah dengan dosis 3x2 kapsul selama 30 hari masa penelitian).

- c. Kuisisioner anamnesis: identifikasi, karakteristik subjek: umur, jenis kelamin, resiko infeksi, depresi, dll

4.6.2. 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 FACS flowcytometer
7. Incubator PH meter
8. Waterbath
9. Timbangan Analitik
10. Vortex
11. Mini centrifuge
12. Sterilizer
13. Kulkas 4°C

4.6.3. Cara Kerja

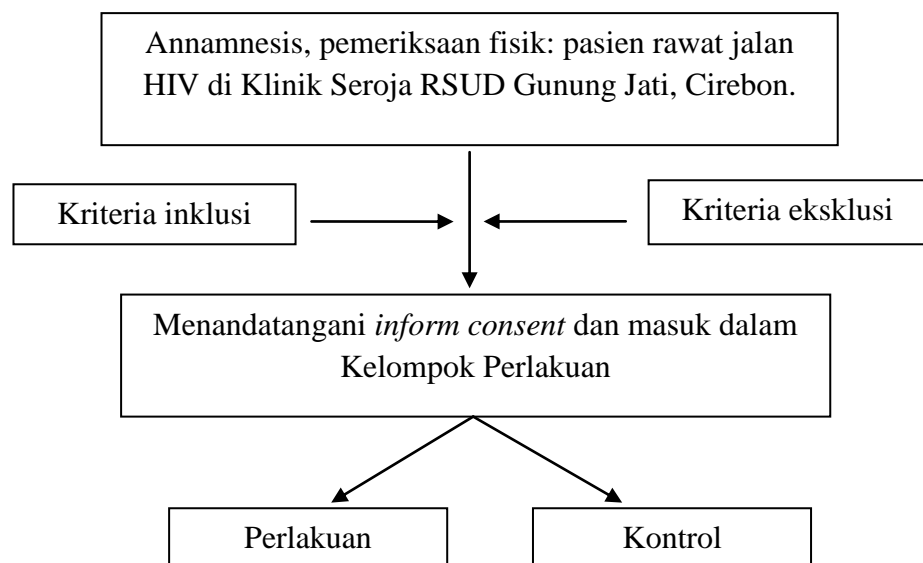
Pasien yang menderita HIV yang menjalani pengobatan terapi ARV di RSUD Gunung Jati Cirebon dilakukan anamnesis awal, mengkaji status kesehatannya untuk diamati apakah dapat menjadi partisipan atau termasuk eklusi. Partisipan yang bersedia dapat mengisi Informed consent dan bersedia mengikuti penelitian.

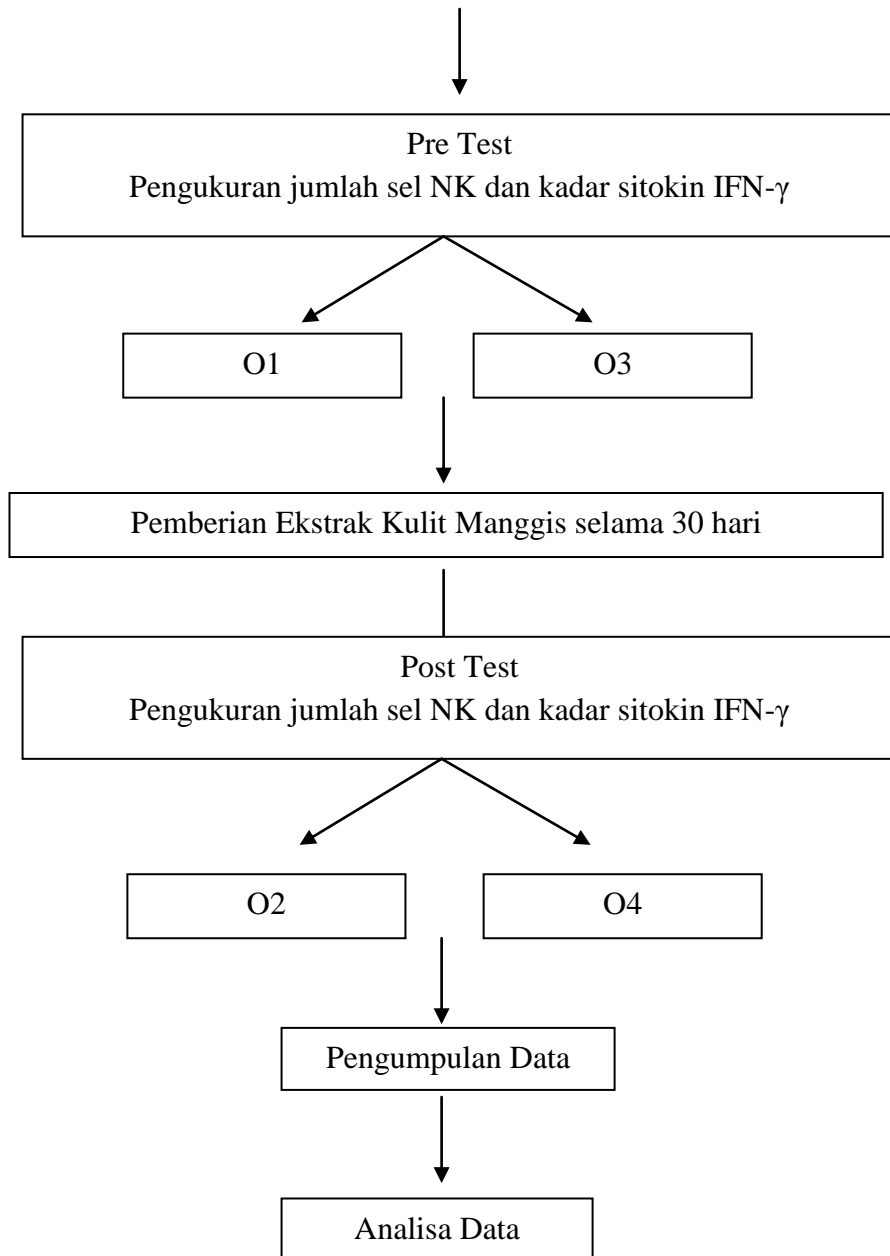
Sampel dilakukan *simple random sampling* sesuai kode kelompok, dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Sampel dalam penelitian ini adalah pasien dengan ARV lebih dari 6 bulan. Tahap selanjutnya adalah pemeriksaan awal (*pre test*) dengan metode pengambilan darah untuk pemeriksaan awal terhadap jumlah Sel NK dan kadar IFN γ . Perlakuan pada penelitian ini dilakukan selama 14 hari dengan pemberian EKM dengan dosis 2400 mg/hari.

Penelitian yang berlangsung diikuti dengan monitoring dengan telfon, sms, BBM group, buku rapor perkembangan pasien dan pertemuan rutin bersama dan pertemuan pribadi. Akhir dari penelitian ini, akan dilakukan pemeriksaan kembali jumlah jumlah Sel NK dan kadar IFN- γ , dengan flowcytometri dan ELISA. Pemberian kode obat dilakukan oleh promotor dan peneliti, dokter dan prawat yang tidak mengetahui pembagian kelompok tersebut (*double blind*).

4.7. Skema Alur Penelitian

Skema 04. Alur Penelitian





4.8. Analisa Statistika

Data yang diproses melalui *cleaning data*, *editing data* dan *coding*, selanjutnya data jumlah sel NK dan kadar IFN- γ akan dientry ke dalam komputer menggunakan perangkat lunak dan selanjutnya dilakukan analisis deskriptif dan analisis analitik.

1. Analisis Deskriptif

Analisa ini menghitung nilai kecenderungan sentral (*mean* dan *median*) dan sebaran (simpang baku/*standard deviation/SD*) dari variabel tergantung. Hasil dari analisa deskriptif tersebut akan disajikan dalam bentuk tabel, dan atau grafik.

2. Analisis Analitik

2.1. Tahap 1

1. *Shapiro–Wilk test* digunakan untuk uji normalitas sebaran data dari variabel.
2. Jika data berdistribusi normal, maka dilakukan uji parametrik *paired sample T test* untuk menentukan antar kelompok yang berbeda.
3. Namun, sebaliknya jika distribusi data tidak normal, dilakukan uji nonparametrik dimana uji beda antar kelompok dengan uji *Wilcoxon Smith test*.
4. *Spearman's Rho test* digunakan untuk uji korelasi
5. Apabila nilai $p < 0,05$ dengan derajat kepercayaan 95%, maka data dianggap berbeda secara bermakna

2.2. Tahap 2

1. Analisis bivariate dilakukan untuk uji hipotesa di antara dua kelompok. Dilakukan karakteristik baik yang numerik untuk melihat kesetaraannya. Selain itu, dilakukan uji hipotesa antara kedua kelompok dengan variable independent. Dilakukan uji beda antara kedua kelompok dan perbedaan

antara sebelum dan sesudah perlakuan serta disajikan delta antara kedua kelompok tersebut.

4.9. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan etika penelitian yang diperoleh dari Komisi Etik Penelitian dan Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, dengan nomor surat No.581/EC/FK-RSDK/2014 dan dimintakan persetujuan pasien (*informed consent*) setelah mendapatkan penjelasan mengenai penelitian ini. Subjek penelitian tidak dibebani biaya tambahan untuk pengambilan data yang dibutuhkan peneliti.