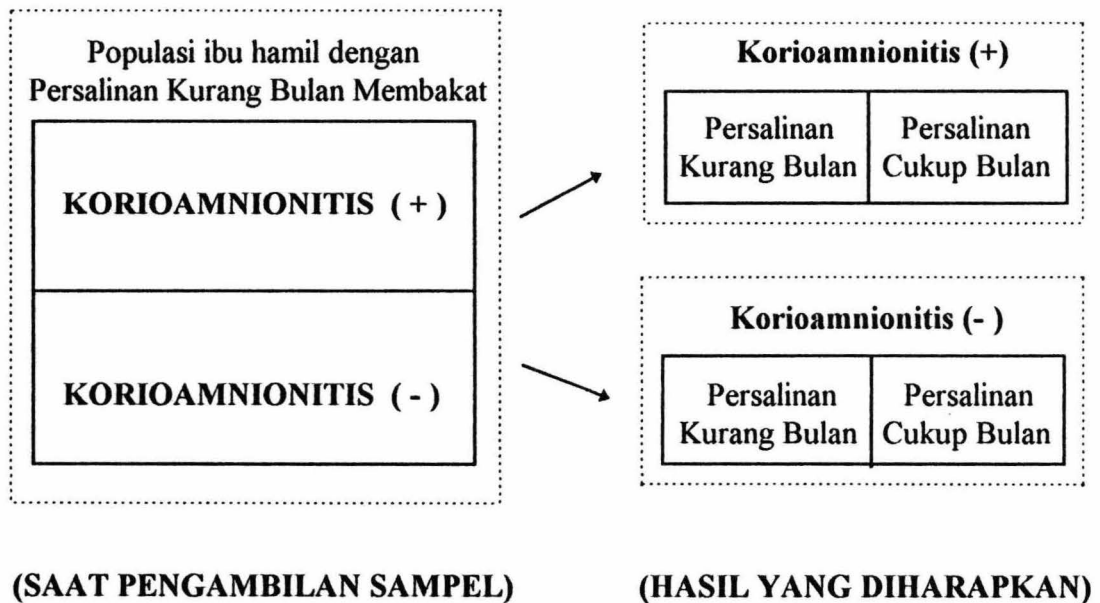


## BAB 4

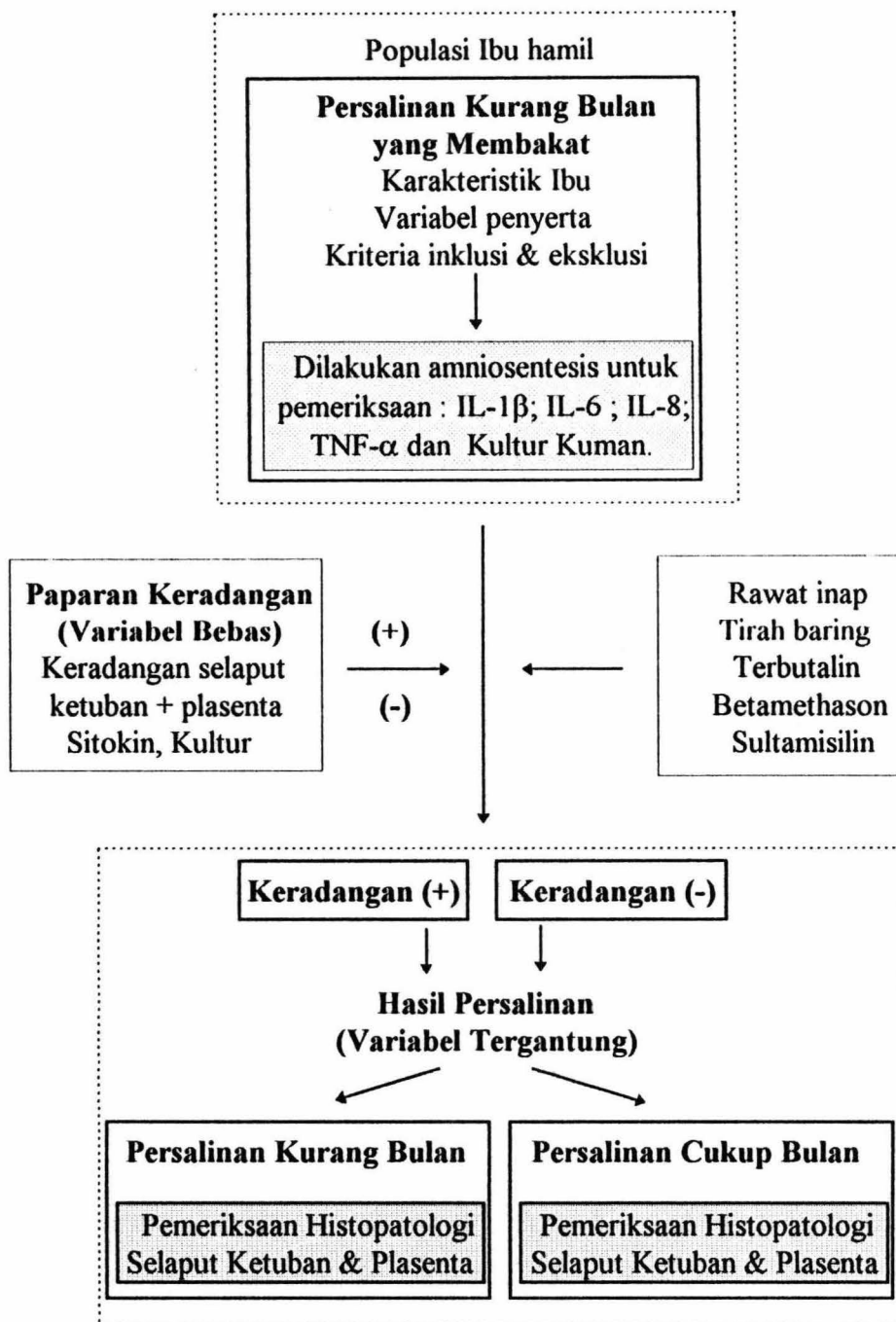
### METODA PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian dilakukan dengan desain Studi Observasional Analitik dalam bentuk Kohort Prospektif dengan kontrol Internal (Greenberg 1993).



Gambar 4.1 Aplikasi desain penelitian Kohort Prospektif.



Gambar 4.2 Kerangka Penelitian.

## 4.2 Tempat, Waktu dan Tenaga Pelaksana Penelitian

- a. Tempat : Penelitian dilakukan dikamar bersalin Instalasi Rawat Darurat (IRD) RSUD. Dr. Soetomo Surabaya.
- b. Waktu : Penelitian dilaksanakan selama 1 tahun.
- c. Pelaksanaan : Penelitian ini dilaksanakan oleh peneliti dengan bantuan tenaga dokter PPDS I Obstetri & Ginekologi dan Bidan di kamar bersalin untuk penapisan dan pemeriksaan awal dari kasus yang akan diteliti.  
  
Pemeriksaan laboratorium dan biokimiawi dilaksanakan oleh tenaga dari Laboratorium Prodia dibawah pengawasan peneliti dan konsultan Ahli Patologi Klinik, pemeriksaan Histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi FK. Unair dibawah pengawasan Ahli Patologi Anatomi, sedangkan untuk pemeriksaan kuman dilakukan kultur air ketuban di Laboratorium Mikrobiologi Klinik FK. Unair dibawah pengawasan Ahli Mikrobiologi.

## 4.3 Populasi dan Sampel

Populasi yang diteliti adalah ibu hamil yang masuk ke kamar bersalin dengan diagnosa Persalinan Kurang Bulan yang Membakat (*Preterm Labor*) yang diduga terpapar oleh peradangan selaput ketuban dan plasenta (korioamnionitis) dengan batasan sebagai berikut,

### 4.3.1 Kriteria inklusi :

- a. Usia kehamilan antara 28 s/d 34 minggu berdasarkan perhitungan hari pertama

haid yang terakhir (LMP) atau pemeriksaan dengan USG apabila LMP jelas (Abadi 1992a)

- b. Selaput ketuban masih utuh .
- c. Kontraksi rahim yang teratur dengan frekwensi 2 kali atau lebih tiap 10 menit.
- d. Ditemukan 2 atau lebih tanda-tanda sebagai berikut, keluarnya darah & lendir dari vagina (show), penipisan servik 50 % atau lebih, pembukaan servik 4 cm atau kurang.

#### 4.3.2 Kriteria Eksklusi :

- a. Hipertensi dalam kehamilan (HDK)
- b. Kehamilan dengan Diabetes Mellitus
- c. Kehamilan ganda
- d. Hydramnion
- e. *Antepartum Bleeding*
- f. Kelainan anatomi rahim
- g. Kehamilan dengan tumor
- h. Kelainan bawaan janin.

#### 4.3.3 Kelompok kasus dan kontrol :

- a. Kasus : adalah kelompok yang terpapar peradangan.
- b. Kontrol : adalah kelompok yang tidak terpapar peradangan.

#### 4.4 Variabel dan Parameter

##### 4.4.1 Paparan peradangan (variabel bebas).

Keradangan yang dimaksud harus memenuhi parameter sebagai berikut:

- a. Tanda-tanda histopatologi peradangan selaput ketuban dan plasenta (Salafia 1989, Greig 1993).
- b. Kultur air ketuban, ditemukan hitung koloni  $> 100$  cfu /ml (Miller J. 1994).
- c. Konsentrasi tertentu IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 dan TNF- $\alpha$  didalam air ketuban (Mitchell 1993, Hermann 1994, Lockwood 1995).

##### 4.4.2 Hasil persalinan ( variabel tergantung ).

Hasil persalinan yang diharapkan akan terjadi adalah persalinan kurang bulan dan cukup bulan.

- a. Persalinan kurang bulan (PKB), dengan parameter :

Usia kehamilan saat melahirkan ditentukan berdasarkan anamnesa hari pertama haid terakhir dan skor Du Bowitz kurang dari 37 minggu.

- b. Persalinan cukup bulan, dengan parameter :

Usia kehamilan saat melahirkan ditentukan berdasarkan anamnesa hari pertama haid terakhir 37 minggu atau lebih. Skor Du Bowitz dilakukan apabila ada kecurigaan suatu kecil masa kehamilan (kmk) atau besar masa kehamilan (bmk).

4.4.3 Variabel penyerta yang berpengaruh terhadap terjadinya persalinan kurang bulan.

- a. Gisi ibu hamil dengan parameter kadar hemoglobin dan albumin serum.
- b. Infeksi sistemik dengan parameter jumlah leukosit dan CRP serum.
- c. Kebiasaan senggama selama hamil sampai trimester II.
- d. Derajat keasaman vagina (pH) untuk deteksi kemungkinan *bacterial vaginosis*.

#### 4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Persalinan kurang bulan yang membakot (*Preterm Labor atau Impending preterm delivery*) (Lockwood 1995).

Batasan : Terjadinya kontraksi uterus dengan frekwensi 2 kali atau lebih per 10 menit pada usia kehamilan antara 20 minggu sampai dengan kurang dari 37 minggu (dengan perhitungan hari pertama haid terakhir) yang diikuti oleh perubahan pada servik (penipisan 50% atau lebih dan pembukaan 2 cm atau lebih)(Iams 1994, Cunningham 1997).

4.5.2 Hipertensi Dalam Kehamilan ( HDK).

Batasan : Kehamilan yang disertai dengan tanda-tanda klinis kenaikan tekanan darah sistolik 140 mmHg atau lebih, diastolik 90 mmHg atau lebih, adanya *oedem* pada tungkai bawah / presakral dan *albuminuri* yang

ditentukan dengan pemeriksaan air kemih dengan test rebus dengan berbagai tingkat kekeruhan.

#### 4.5.3 Kehamilan ganda .

Batasan : Kehamilan di dalam rahim dengan tanda klinis rahim lebih besar dari usia kehamilan dan diraba ada 2 bagian besar janin (kepala dan bokong) atau dengan pemeriksaan USG tampak gambaran 2 janin di dalam rahim (Kurjak 1986).

#### 4.5.4 Hydramnion.

Batasan : Kehamilan di dalam rahim dengan tanda klinis adanya pembesaran rahim yang lebih besar dari usia kehamilan dan bagian janin sulit ditentukan dari luar. Tampak gambaran air ketuban yang berlebihan dengan ketentuan AFI (*Amniotic Fluid Index*) > 24 cm (Phelan 1987, Moore 1990, Cunningham 1993).

#### 4.5.5 Perdarahan pada kehamilan lanjut.

Batasan : Perdarahan *vaginal* pada kehamilan 20 minggu atau lebih yang disertai tanda klinis maupun pemeriksaan USG tampak gambaran adanya kumpulan darah (*hematome*) di belakang plasenta dengan insersi normal (*Solusio Plasenta*), atau tampak gambaran plasenta yang insersinya pada SBR (Segmen Bawah Rahim), menutup bagian dalam mulut rahim (*Plasenta Previa*).

#### 4.5.6 Kelainan anatomi rahim

Batasan : Dengan pemeriksaan USG tampak gambaran masa padat disamping rahim yang berisi janin atau pemeriksaan pasca persalinan ditemukan *Uterus Duplex* atau *Uterus Bicornu*.

#### 4.5.7 Kehamilan dengan tumor.

Batasan : Tumor jinak pada dinding rahim (*Myoma Uteri*) yang bisa diperiksa antenatal atau postnatal dengan USG.

Tumor ganas pada mulut rahim yang bisa diketahui dengan periksa dalam (periksa vagina dan inspekulo) dan apabila dicurigai adanya kelainan tersebut dilakukan biopsi.

#### 4.5.8 Kelainan bawaan janin.

Batasan : Dengan pemeriksaan USG tampak adanya tanda kelainan bawaan janin seperti *Anencephalus*, *Hydrocephalus*, *Fetal Hydrops*, *Omphalocele*, *Gastroschisis*.

#### 4.5.9 Kehamilan dengan Diabetes Mellitus (DM).

Batasan : DM dalam kehamilan ditentukan dengan penapisan awal dan kriteria diagnosis dengan metoda Sullivan- Mahan (Abadi 1992b).

#### 4.5.10 Keradangan selaput ketuban dan plasenta (korioamnionitis).

Istilah korioamnionitis secara klinis juga dikenal sebagai amnionitis, infeksi intraamniotik (*Intraamniotic Infection*) atau infeksi dalam air ketuban (*Amniotic Fluid Infection*)(Gibbs 1993).



a. Parameter klinis :

Batasan : Suhu rektal  $> 38^{\circ}\text{C}$ , takikardi  $> 100/\text{mt}$ , nyeri pada uterus,

leukositosis  $> 15000/\text{ml}$ , getah vagina yang berbau busuk.

Parameter klinis ini tidak selalu ditemukan pada setiap kasus.

b. Parameter histopatologi :

Batasan : Adanya tanda radang pada selaput ketuban dan plasenta dengan

kriteria peradangan akut yang dikembangkan oleh Salafia tahun 1989

yakni sebagai berikut (Salafia 1989, Greig 1993) :

Keradangan Selaput Ketuban :

Tingkat 1 : ditemukan 1 fokus dengan paling sedikit 5 sel Netrofil.

Tingkat 2 : seperti tingkat 1 akan tetapi ditemukan pada lebih dari 1 fokus atau ditemukan 5-20 sel Netrofil pada 1 fokus.

Tingkat 3 : ditemukan beberapa kelompok dari tingkat 2 (multipel).

Tingkat 4 : adanya gambaran peradangan akut yang menyebar seluruh lapangan pandang dan padat.

Keradangan Plasenta :

Tingkat 1 : ditemukan 1 fokus dengan paling sedikit 5 sel Netrofil pada fibrin subkhorion.

Tingkat 2 : ditemukan fokus multipel dari tingkat 1 pada fibrin subkhorion.

Tingkat 3 : ditemukan beberapa sel Netrofil pada jaringan penyangga atau lempeng khorion.

Tingkat 4 : ditemukan banyak sel Netrofil pada lempeng khorion dan tanda peradangan pada pembuluh darah khorion.

c. Parameter mikrobiologi :

Batasan : Kultur air ketuban untuk mengetahui adanya kuman di dalam air ketuban. Penilaian kultur ini didasarkan atas jumlah koloni dan dinyatakan positif apabila ditemukan 100 cfu ( coloni forming unit ) per mililiter air ketuban (Miller 1994 ).

d. Parameter imunologi :

Batasan : Ditemukan konsentrasi yang meningkat dari IL-1 $\beta$  , IL-6, IL-8 dan TNF  $\alpha$  di dalam air ketuban (Mitchell 1993, Hermann 1994, Lockwood 1995). Pengukuran kadar sitokin ini dilakukan dengan metoda Elisa (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), kemudian ditentukan nilai batas yang mempunyai risiko terjadinya persalinan kurang bulan.

4.5.11 Persalinan kurang bulan.

Batasan : Usia kehamilan saat lahir kurang dari 37 minggu berdasarkan anamnesis hari pertama haid terakhir.

4.5.12 Persalinan cukup bulan.

Batasan : Usia kehamilan saat lahir 37 minggu atau lebih berdasarkan anamnesis hari pertama haid terakhir.

4.5.13 Usia ibu.

Batasan : usia ibu dalam tahun, dengan pengelompokan usia reproduksi, < 20 tahun, 20 - 35 tahun dan > 35 tahun.

#### 4.5.14 Anemia pada ibu hamil.

Batasan : Normal, Hb. 10,5 g% atau lebih (PCV 32 % atau lebih).

Anemia, Hb. < 10,5 g%. (PCV < 32 %) (Abrams B. 1994).

#### 4.5.15 Paritas.

Batasan : Primigravida, apabila ibu baru pertamakali hamil.

Multigravida, apabila ibu pernah mengalami kehamilan sebelumnya.

#### 4.5.16 Pekerjaan.

Batasan : Pekerjaan ibu, dengan pengelompokan sebagai berikut,

Tidak bekerja, buruh, PN / ABRI, Swasta / Pedagang.

#### 4.5.17 Pendidikan .

Batasan : Pendidikan ibu, dengan pengelompokan sebagai berikut,

Tidak sekolah, SD, SLTP, SMU dan Perguruan Tinggi / Akademi.

### **4.6 Alur Penelitian**

#### *4.6.1 Informed Consent*

Kasus terpilih, yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi diminta untuk menanda tangani lembar persetujuan (Informed Consent). Dengan menggunakan lembar persetujuan untuk mengikuti penelitian yang dibuat khusus untuk penelitian tersebut, ibu hamil dan suami atau keluarga yang mengantarkan, diberikan penjelasan tentang hal-hal yang berkaitan dengan kegiatan penelitian, apa saja yang akan diperiksa, bagaimana cara pemeriksaan tersebut dilakukan dan apa manfaat penelitian tersebut (lampiran 2).

#### 4.6.2 Pengelolaan persalinan kurang bulan yang membakat.

Semua kasus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan pengelolaan sesuai dengan standar yang telah ditentukan untuk kasus dengan diagnosa persalinan kurang bulan yang membakat yakni :

- a. tirah baring dirumah sakit .
- b. pemberian Betamethason injeksi 16 mg/im / hari selama 2 hari.
- d. pemberian tokolitik Terbutalin dengan protokol yang telah ditetapkan

(lampiran 6)

- d. pemberian antibiotika Sultamisilin inj. 2x1,5g./im sehari selama 2 hari dilanjutkan dengan per-oral 2 x 375 mg / hari selama 5 hari.
- e. periksa luar dan periksa dalam (*vaginal*) hanya dilakukan saat penderita masuk kamar bersalin oleh peneliti.

Selama perawatan di rumah sakit, dilakukan pemantauan dari keadaan penderita serta kemungkinan efek samping obat yang diberikan, sampai dengan apabila terjadi persalinan dibuat catatan medik dengan lembar pengumpul data yang khusus dibuat untuk penelitian (lampiran 1).

Penderita diperbolehkan rawat jalan apabila sudah tidak ada tanda kontraksi rahim lagi serta meneruskan pengobatan di rumah disertai nasihat selama menunggu persalinan terjadi, misalnya tidak dianjurkan untuk melakukan senggama sampai dengan saat persalinan nanti, tidak mengonsumsi obat-obat lain kecuali vitamin yang diberikan oleh dokter dan segera ke kamar bersalin IRD. RSUD. Dr. Soetomo apabila ada keluhan dari kehamilannya atau ada tanda akan melahirkan.

#### 4.6.3 Pengambilan bahan untuk pemeriksaan laboratorium. .

##### a. Pemeriksaan air ketuban.

Pemeriksaan ini dilakukan sebelum terjadinya persalinan pada saat masuk kamar bersalin. Untuk tujuan pemeriksaan ini dilakukan pengambilan 20 ml sampel air ketuban dengan cara *Transabdominal Amniocentesis*. Sampel air ketuban ini kemudian dibagi 2 tabung. Satu tabung berisi 10 ml dilakukan pemeriksaan mikrobiologi (langsung). Tabung yang lain 10 ml diputar pada 1000 rpm selama 10 menit, kemudian supernatan dibagi menjadi 2 tabung dan endapan (sel) dalam 1 tabung *polyethylene* kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu - 80°C.

Selanjutnya setelah terkumpul kasus penelitian dalam jumlah tertentu, dilakukan pemeriksaan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 dan TNF- $\alpha$  dengan metoda Elisa, dengan *reagens* Milenia, Endpoint Enzyme Immunometric Assay (Lampiran 5).

##### b. Pemeriksaan histopatologi dari selaput ketuban dan plasenta.

Pemeriksaan dilakukan pasca persalinan. Sampel untuk pemeriksaan ini diambil dari selaput ketuban di sekitar tempat robekan terjadi (ukuran lebar  $\pm 2$  cm) dan dari jaringan plasenta di sekitar insersi tali pusat (ukuran  $\varnothing \pm 5$  cm), kemudian sampel ini dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk melihat adanya tanda radang akut yang sesuai dengan batasan Salafia (Salafia 1989)(Lampiran 4).

#### 4.6.4 Penilaian klinis dari hasil akhir persalinan.

##### a. Penundaan persalinan .

Penilaian klinis hasil pengobatan yang diberikan adalah lama waktu penundaan

persalinan, dinyatakan dalam satuan hari.

b. Usia Hamil saat melahirkan.

Usia kehamilan saat melahirkan berdasarkan anamnesa hari pertama haid terakhir dan skor Du Bowitz, dinyatakan dalam satuan minggu.

c. Berat badan bayi waktu lahir.

Berat lahir ditimbang dengan timbangan yang telah disediakan dikamar bersalin, dinyatakan dalam satuan gram.

#### 4.7 Besar Sampel

Jumlah kasus yang akan diteliti tergantung pada angka kejadian dan teknik analisis statistik yang akan dipilih .

Untuk menentukan besar sampel pada penelitian Kohort ini maka kita harus menentukan unsur untuk menentukan besar sampel yang sesuai (Browner 1988).

Adapun unsur tersesebut terdiri dari :

1. Hipotesis alternatif, dengan asumsi bahwa kejadian korioamnionitis pada persalinan kurang bulan lebih tinggi dibanding persalinan cukup bulan.
2. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, proporsi korioamnionitis pada persalinan kurang bulan  $\pm 80\%$  ( $P_1 = 0,80$ ) dan pada persalinan cukup bulan  $\pm 32\%$  ( $P_2 = 0,32$ ) (Greig 1993, Abadi 1998a).

Perbedaan  $P_1 - P_2$  (Effect Size) = 0,48.

3. Alfa (one tailed) = 0,05 dan Beta = 0,20

Berdasarkan unsur yang telah ditentukan diatas maka besar sampel ( $n$ ) untuk penelitian ini dapat ditemukan dengan melihat tabel pada App.13B. hal. 216 dalam *Designing Clinical Research* oleh Hulley et al 1988 (Lampiran 10)

Dengan melihat harga  $P_2=0,32$  ,  $P_1-P_2=0,48$  dan  $\alpha=0,05$  (one tailed) maka didapatkan bahwa besar sampel yang dibutuhkan untuk penelitian di atas masing-masing 14 kasus untuk tiap kelompok yang akan diperbandingkan (Hulley 1988).

#### 4.8. Analisis Data

- a. Uji normalitas (*Kolmogorov - Smirnov*) distribusi kasus yang diteliti untuk menentukan jenis uji statistik yang akan dipilih (parametrik atau nonparametrik).

Hasil uji normalitas ditemukan distribusi normal pada data umur ibu, usia hamil saat datang, kadar hemoglobin, kadar albumin jumlah lekosit dalam serum ibu, usia hamil saat melahirkan, berat lahir dan kadar IL-6 dalam air ketuban.

Sedangkan data variabel yang lain tidak mempunyai distribusi normal.

Uji normalitas ini sebenarnya tidak terlalu berpengaruh dalam analisis selanjutnya oleh karena data variabel tergantung adalah skala nominal serta analisis selanjutnya adalah uji korelasi, analisis risiko dan regresi logistik yang tidak dipengaruhi oleh normalitas distribusi data.

- b. Uji homogenitas dilakukan pada kedua kelompok kasus yang akan diperbandingkan. Uji ini dilakukan pada karakteristik kasus dan variabel penyerta yang diduga berpengaruh terhadap variabel tergantung. Uji statistik yang dilakukan

untuk ini adalah uji Chi Square (non parametrik) dan uji Student-t (parametrik).

Untuk uji kemaknaan dipakai nilai batas kemaknaan 0,05.

- c. Untuk menentukan nilai batas (*cut off value*) variabel bebas maupun variabel penyerta yang diduga mempunyai pengaruh terhadap variabel tergantung bila data dengan skala interval (kontinju), dilakukan analisis dengan kurva R.O.C (*Receiver Operator Characteristic*).
- d. Untuk setiap variabel yang ikut dalam analisis (variabel penyerta dan variabel bebas) dinilai risiko relatif (RR) serta *attributable risk* (AR).
- e. Uji regresi logistik dilakukan untuk menguji pengaruh beberapa variabel bebas dan variabel penyerta (paparan dan faktor risiko) terhadap hasil persalinan (variabel tergantung).
- f. Untuk menilai hubungan antar variabel dilakukan uji korelasi Pearson, uji korelasi (koefisien kontigensi) Kendall atau uji korelasi berjenjang Spearman.