



**HUBUNGAN LAMA KEMATIAN DENGAN KERUSAKAN
HISTOPATOLOGIS OTOT GASTROCNEMIUS
TIKUS WISTAR**

*ASSOCIATION BETWEEN DURATION POSTMORTEM INTERVAL WITH
HISTOPATOLOGICAL DAMAGE IN WISTAR RATS'S
GASTROCNEMIUS MUSCLE*

**ARTIKEL KARYA TULIS
ILMIAH**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai derajat
sarjana strata-1 kedokteran umum**

**HANINDYA PRASOJO
G2A006077**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

HUBUNGAN LAMA KEMATIAN DENGAN KERUSAKAN HISTOPATOLOGIS OTOT GASTROCNEMIUS TIKUS WISTAR

Hanindya Prasajo¹, Gatot Suharto²

ABSTRAK

Latar belakang: Penentuan lama kematian sangat dibutuhkan pada berbagai kasus, dan tidak sedikit yang melibatkan proses peradilan. Perubahan postmortem yang dijadikan dasar dalam penentuan lama kematian masih sangat terbatas. Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi yang bermakna untuk kepentingan medikolegal.

Metode: Penelitian ini menggunakan *the post test only control group design* dengan menggunakan tikus *Wistar* sebagai obyek penelitian. Perlakuan dalam penelitian adalah membiarkan tikus *Wistar* postmortem dengan waktu bertingkat. Keluaran yang dinilai adalah jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis. Data dideskripsikan dalam bentuk tabel dan gambar, dilakukan uji Pearson, Spearman dan analisis logistik dengan program *SPSS 16.0 for windows*.

Hasil: Uji statistik pada penelitian ini yang terdiri dari uji normalitas dan uji korelasi tidak dapat dilakukan karena data yang didapatkan berupa konstanta secara menyeluruh. Peneliti mendapatkan hasil nol pada setiap penghitungan sel otot yang nekrosis pada sampel yang terdapat di kelompoknya masing-masing.

Simpulan: Tidak terdapat hubungan antara lama waktu kematian dengan kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* tikus *Wistar*. Besar kemungkinan hal tersebut dikarenakan lama kematian pada variabel penelitian dan pembesaran mikroskop yang kurang adekuat.

Kata kunci: lama kematian, kerusakan otot *gastrocnemius*.

¹Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip.

²Staf pengajar Bagian Forensik FK Undip.

**ASSOCIATION BETWEEN DURATION POSTMORTEM INTERVAL WITH
HISTOPATOLOGICAL DAMAGE IN WISTAR RATS'S
GASTROCNEMIUS MUSCLE**

ABSTRACT

Background: Determination of duration postmortem is really needed in many cases. There are plenty of cases involved in court. Postmortem changes which is based for duration postmortem determination is very limited. This research is expected to give valuable contribution for medicolegal interest.

Methods: Using the post test only control group design, this research used Wistar rats as object. The treatment of this research was letting postmortem Wistar rats in degree of time. The output was number of Wistar rat's necrosis gastrocnemius muscle cell. Data was described in table and picture, treated with Pearson or Spearman test and logistic analysis with SPSS 16,0 for windows program.

Result: Statistic test consist of normality and correlation tests could not be done. It's because of data constitute constanta thoroughly. Researcher got zero for each counted sample in each group.

Conclusion: There was not association between duration postmortem interval with histopatological damage in Wistar rat's gastrocnemius muscle. Big possibility that postmortem duration and microscope magnification were not adequate.

Keywords: posrtmortem duration, gastrocnemius muscle damage

PENDAHULUAN

Pemeriksaan medikolegal dapat meliputi sebab kematian dan lama waktu kematian yang sangat berhubungan erat dengan tuduhan pembunuhan, karena dapat diperhitungkan antara keberadaan tersangka dengan waktu kematian.¹ Lama waktu kematian dapat diperkirakan dengan perubahan-perubahan yang terjadi pada tubuh jenazah. Perubahan eksternal paling banyak digunakan sebagai tanda pasti kematian, karena selain pemeriksaannya tidak sulit dan dapat dilakukan dalam waktu yang singkat walaupun sebagian besar penilaiannya masih subjektif. Perubahan eksternal yang dapat dinilai antara lain adalah penurunan suhu jenazah, adanya lebam mayat, dan kaku mayat serta proses pembusukan termasuk keberadaan serangga dan perubahan internal berupa perubahan biokimiawi maupun perubahan yang terjadi di dalam sel.^{1,2}

Glikogen merupakan bentuk penyimpanan karbohidrat yang utama di tubuh mamalia dan dijumpai terutama di hati dan otot. Fungsi utama glikogen di hati adalah untuk menyediakan energi tubuh lain melalui pembentukan glukosa, sedangkan di otot unsur ini hanya memenuhi organ itu sendiri sebagai sumber bahan bakar metabolik yang siap pakai. Glikogen di otot pada postmortem tentu saja akan berbeda dengan antemortem karena adanya malregulasi glikolisis yang pada akhirnya akan memberikan gambaran histopatologik pada otot.³

Perubahan morfologi sel mati dapat dipergunakan sebagai alternatif untuk memperkirakan lama waktu kematian. Mueller dkk (1965) melakukan penelitian pada hati seekor babi dan menyatakan bahwa setelah 2 jam postmortem telah terjadi perubahan pada sitoplasma dan pembengkakan mitokondria, 4 jam

postmortem mitondria mulai berkurang, 6 jam postmortem membran sitoplasma ruptur dan setelah 15 hari postmortem hanya dapat dikenali sebagai jaringan kolagen dan jaringan ikat elastis. Tomita Y dkk (2004) melakukan penelitian deskriptif terhadap perubahan struktural postmortem ginjal, pankreas, hati, jantung dan otot-otot skelet pada tikus wistar, kemudian menyatakan bahwa perubahan tersebut terjadi tidak serentak, pertama kali pada ginjal dan paling lambat pada otot skelet.^{1,4}

Pada penelitian ini akan dipergunakan tikus *Wistar* karena morfologinya yang besar sehingga diharapkan secara teknis lebih mudah.⁵ Otot ekstremitas dipilih sebagai organ yang diteliti karena merupakan salah satu tempat penting dalam regulasi glikogen dan berhubungan erat dengan proses kerusakan histologik pada postmortem. Penelitian ini akan menggunakan *musculus gastrocnemius* sebagai subjek penelitian representasi dari otot ekstremitas.

Peneliti ingin melakukan penelitian mengenai hubungan antara lama waktu kematian dengan jumlah sel nekrosis pada otot ekstremitas tikus *Wistar* postmortem, sebagai salah satu cara untuk memperkirakan lama waktu kematian dengan pemeriksaan yang lebih objektif dengan rentang waktu sesempit mungkin. Peneliti memfokuskan penelitian pada jumlah sel otot yang nekrosis pada penelitian kali ini, karena merupakan cara yang mudah, murah, relatif akurat, dan paling *feasible* untuk mengetahui kerusakan histopatologis otot ekstremitas lebih lanjut.

Masalah penelitian ini adalah apakah terdapat hubungan antara lama waktu kematian dengan kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* tikus *Wistar*,

sedangkan mempunyai tujuan untuk mengetahui hubungan antara lama waktu kematian dengan kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* tikus *Wistar*. Menilai jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dan membandingkan jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis antar kelompok perlakuan adalah tujuan penelitian selain yang telah disebutkan di atas. Penelitian ini diharapkan dapat sebagai tambahan informasi untuk melengkapi penelitian-penelitian selanjutnya pada hewan coba lainnya dan sebagai dasar penelitian lebih lanjut tentang hubungan antara lama waktu kematian dengan kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* pada manusia.

Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan perubahan postmortem lebih banyak meneliti pada organ dalam tikus. Organ-organ yang diteliti tersebut meliputi jantung, pancreas, gaster, dan organ dalam lainnya. Penelitian kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* dengan waktu yang bertingkat belum pernah dilakukan, sehingga menjadikan ini penelitian yang pertama.

METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium biologi fakultas matematika ilmu pengetahuan alam (F-MIPA) Universitas Negeri Semarang, dan berlangsung dari bulan Maret sampai Mei 2010. Ilmu kedokteran forensik, ilmu patologi anatomi, dan ilmu histologi adalah cakupan ilmu yang melingkungi penelitian kali ini, serta merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Perlakuan dalam penelitian adalah membiarkan tikus

Wistar postmortem dengan waktu bertingkat. Keluaran (*outcome*) yang dinilai adalah jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lamanya postmortem tikus *Wistar* sebelum diteliti, sedangkan variabel tergantungnya adalah jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis. Lama waktu kematian adalah waktu yang dihitung sejak 10 menit paska dekapitasi, tidak teraba denyut nadi dan gerak pernafasan sampai dilakukannya pengukuran. Lama waktu kematian ini mempunyai satuan jam. Jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis adalah gambaran histopatologi sel otot yang menunjukkan ciri-ciri nekrosis, serta memiliki satuan buah.

Lama waktu bertingkat diukur menggunakan *stoptwatch* dengan rentang waktu yang telah ditentukan dan memiliki skala interval. Jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis dihitung dengan menjumlahkan jumlah sel otot yang mengalami inti piknotik, kariolisis, ataupun karioreksis pada lima area dalam dua lapangan pandang setiap preparat. Jumlah sel otot ini memiliki skala rasio

Populasi yang diteliti adalah tikus *Wistar*. Sampel penelitian harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi antara lain tikus *Wistar* jantan, mempunyai berat badan 150 sampai 200 gram, berumur 3 sampai 4 bulan, dan anatomi tampak normal. Kriteria eksklusi antara lain tikus sakit dan mati sebelum diberikan perlakuan.

Besar sampel penelitian adalah jumlah sampel penelitian minimal 5 ekor tiap kelompok. Penelitian ini terdapat 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok

perlakuan, sehingga membutuhkan 25 ekor tikus *Wistar*. Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*) untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan.

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah alat untuk dekapitasi, pembuatan preparat histologi, dan pemeriksaan histopatologis. Alat untuk dekapitasi antara lain obeng dan dapat dilakukan secara manual dengan tangan. Alat untuk pembuatan preparat histologi antara lain dek glas dan objek glas. Alat untuk pemeriksaan histopatologis antara lain pisau skalpel, pinset bedah, gunting, mikroskop, dan kamera digital

Bahan untuk pemeriksaan histopatologis adalah otot ekstremitas tikus *Wistar* (*m.gastrocnemius*), larutan Bouin, larutan buffer formalin 10%, parafin cair, albumin dan poly-L-Lysine, hematoxilin eosin, larutan xylol, alkohol serta aquades.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian gambaran histopatologi otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Data dikumpulkan pada bulan Maret sampai Mei 2010 yang dilakukan di laboratorium biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Sampel penelitian yang terdiri dari 25 ekor tikus dilakukan adaptasi selama tujuh hari. Sampel penelitian kemudian dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Seluruh sampel dilakukan dekapitasi secara bersamaan, lalu otot *gastrocnemius* tikus tersebut diambil sesuai waktu yang telah ditentukan. Otot *gastrocnemius* tikus kelompok kontrol diambil

setelah 10 menit dekapitasi, kelompok perlakuan satu diambil setelah 1 jam dekapitasi, kelompok perlakuan dua diambil setelah 2 jam dekapitasi, kelompok perlakuan tiga diambil setelah 3 jam dekapitasi, kelompok perlakuan empat diambil setelah 4 jam dekapitasi. Otot *gastrocnemius* tersebut lalu dibuat preparat untuk dilakukan pemeriksaan kerusakan histopatologisnya.

Data terkumpul dilakukan *editing*, koding, *entry* dan *cleaning* untuk kemudian dianalisis secara deskriptif maupun analitik. Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer *SPSS 16.0 for windows*. Analisis data didahului dengan analisis deskripsif berupa prosentase gambaran histopatologis otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik *box-plot* menurut lama waktu kematian. Kemudian dilakukan uji normalitas, apabila distribusi normal, untuk mengetahui adanya hubungan antar variabel mempergunakan korelasi (Pearson), sedangkan apabila distribusi tidak normal dipergunakan *rank correlation test* (Spearman).

HASIL PENELITIAN

Sampel yang digunakan adalah sampel yang memenuhi kriteria inklusi berjumlah 25 buah. Penentuan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*) untuk menghindari bias karena faktor umur dan berat badan. Peneliti tidak menemukan sampel yang *drop out* pada penelitian ini. Penelitian ini tidak menemukan sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Uji statistik pada penelitian ini yang terdiri dari uji normalitas dan uji korelasi tidak dapat dilakukan karena data

yang didapatkan berupa konstanta secara menyeluruh. Peneliti mendapatkan hasil nol pada setiap penghitungan sel otot yang nekrosis pada sampel yang terdapat di kelompoknya masing-masing.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian tidak sesuai dengan yang diharapkan peneliti. Peneliti mengharapkan akan adanya proses degenerasi seperti pembengkakan sel sebelum terjadinya inti sel piknotik, yang dijadikan dasar adanya kelompok perlakuan dengan lama waktu kematian bertingkat sebelum empat jam. Hasil nol didapatkan pada proses penghitungan sel otot nekrosis pada setiap sampel kelompok perlakuan, mulai dari lama kematian terpendek sampai terpanjang dalam penelitian ini. Hal tersebut kemungkinan besar dikarenakan lama kematian yang tidak adekuat untuk menunjukkan kerusakan histopatologis. Inti sel otot piknotik mungkin saja dapat dilihat menggunakan pembesaran yang lebih besar seperti mikroskop elektron pada lama kematian enam jam, seperti yang disebutkan pada literatur²¹. Pembesaran yang lebih besar memungkinkan untuk mengidentifikasi proses piknotik yang belum luas dan awal, sedangkan mikroskop cahaya belum dapat mengidentifikasinya pada kelompok perlakuan dengan lama kematian di bawah empat jam. Alasan di atas adalah penyebab mengapa peneliti mendapatkan hasil nol yang homogen pada semua sampel.

Pada penelitian ini dapat dikatakan tidak terdapat hubungan antara lama kematian dengan otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis, akan tetapi perlu diingat bahwa lama kematian pada kelompok perlakuan hanya sampai empat jam.

Penelitian lebih lanjut sangat perlu dilakukan untuk mengetahui hubungan antara lama kematian dengan kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* tikus *Wistar*, baik dengan rentang waktu yang lebih lama maupun pembesaran yang lebih besar, sehingga kerusakan otot dapat benar-benar diidentifikasi.

Penelitian terdahulu serupa yang menggunakan organ hepar pada kematian 4 jam dapat ditemukan kerusakan histopatologis, berbeda dengan otot *gastrocnemius* dengan lama waktu kematian yang sama.⁷ Hepatosit tikus melukiskan ciri-ciri yang lazim ditemukan pada banyak sel eukariotik. Hepatosit mengandung sejumlah organel utama seperti nukleus, mitokondria, retikulum endoplasma, ribosom, aparatus golgi, peroksisom, membran plasma dan unsur-unsur kerangka sel tertentu.

Pasokan oksigen yang terhenti akan menyebabkan kondisi anoksia. Anoksia akan menyebabkan sintesis ATP (*adenosine triphosphate*) terhenti dan terjadi perubahan mekanisme untuk memperoleh energi dari respirasi oksidatif menjadi glikolisis anaerob sampai cadangan glikogen pada hepatosit habis. Kation dan pompa air pada membran plasma maupun membran-membran organela seluler berhenti memompa sodium, kalsium dan air, sehingga baik organela maupun sel akan membengkak^{15,22}. Keadaan anoksia yang terus menerus akan menyebabkan kematian sel yang tidak dapat pulih kembali dan permanen^{15,23}. Jumlah jaringan intersisial yang lebih banyak daripada organ hepar, menjadikan organ hepar lebih banyak mengkonsumsi oksigen. Hal ini menyebabkan metabolisme hepar yang lebih banyak dan cepat dibandingkan otot *gastrocnemius*, baik melalui jalur glikogenolisis maupun glikolisis anaerob. Kondisi tersebut yang menyebabkan

organ hepar lebih cepat rusak daripada organ otot *gastrocnemius* pada waktu yang sama. Mitokondria sel otot skelet yang lebih padat juga merupakan penyebab otot *gastrocnemius* lebih lambat rusak dibandingkan organ hepar, dikarenakan deposit senyawa energi yang lebih banyak.

Penelitian ini akhirnya dapat mencapai simpulan bahwa tidak terdapat hubungan antara lama waktu kematian dengan jumlah sel otot *gastrocnemius* tikus *Wistar* yang nekrosis. Penelitian lebih lanjut tentang hubungan lama kematian dengan kerusakan histopatologis otot *gastrocnemius* dengan pembesaran yang lebih kuat, serta waktu bertingkat yang lebih lama dari peneliti sekarang sangat perlu dilakukan. Otot *gastrocnemius* mempunyai gambaran yang cukup kompleks dalam sediaan preparat, serabut-serabut otot yang tumpang tindih dan seringkali terpotong tidak searah menjadikannya tantangan tersendiri. Peneliti harus lebih cermat dan teliti dalam penghitungan sel otot *gastrocnemius* yang nekrosis pada penelitian selanjutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena-Nya laporan akhir hasil penelitian ini dapat selesai dengan baik. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada rektor Universitas Diponegoro, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Dr. Gatot Suharto, S.H., SpF, M.Kes dan Dr. Arfi S., Sp.FK dosen pembimbing karya tulis ilmiah, Bapak Heru Sunarto dan Ibu Chatarina Niken selaku orangtua, dan semua

pihak yang telah membantu penyusunan karya tulis ilmiah yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dahlan S. Ilmu kedokteran forensik. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2000.
2. Simpson K. Modern trends in forensic medicine 2. London: London Butterworths; 2003.
3. Murray RK, Daryl KG, Peter AM, Victor WR. Biokimia harper. Trans. Andry H (editor). 25th ed. Jakarta: EGC; 2003.
4. Tomita Y, Nihira M, Ohno Y, Sato S. Ultrastructural changes during in situ early postmortem autolysis in kidney, pancreas, liver, heart and skeletal muscle of rats. *Legal Medicine (Tokyo)*, 2004; 6.
5. Anonim. The laboratory rat. Available at URL. <http://www.Issu.edu/faculty/jroese/Animalcare/rat/blood.htm>.
6. Zdravković M, Kostov M, Stojanović M. Identification of postmortem autolytic changes on the kidney tissue using the PAS stained method. *Medicine and biology*. 2006; 13.
7. Inunu I. Hubungan antara lama waktu kematian dengan kadar ureum postmortem dan gambaran histopatologis hepar pada tikus wistar. Semarang: Universitas Diponegoro; 2007.

8. Pryce DM, CF Ross. Ross's post-mortem appearances. 6th ed. London: Oxford University Press; 1963.
9. Gartner PL, JL Hiatt. Color textbook of histology. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.
10. Bloom W, DW Fawcett. ¹¹ book of histology. 10th ed. Philadelphia: Saunders; 1975.
11. Cormack DH. Ham histologi Jilid Satu. Edisi 9. Jakarta: Binarupa Aksara; 1994.
12. Eroschenko VP. Atlas histologi di fiore. Trans. Jan T (editor). 9th ed. Jakarta: EGC; 2003.
13. Guyton AC, John EH. Buku ajar fisiologi kedokteran. Trans. Setiawan I (editor). 11th ed. Jakarta: EGC; 1997.
14. Fauci AS, Dennis LK, Dan LL, Eugene B, Stephen LH, J Larry J, et al. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: Mc Graww Hill; 2008.
15. L Robbins S, Kumar V, Oswari J. Buku ajar patologi I. Trans. Brahm U. (editor) 4th ed. Jakarta: EGC; 1992.
16. Underwood JCE. Patologi umum dan sistemik. Trans. Sarjadi. (editor) 2nd ed. Jakarta: EGC; 1999.
17. Kring D. Outmuscling rhabdomyolysis. Critical Choices {serial online}. 2004 {cited 2009 Des 15}:24-29. Available from: Springhouse Corporation.

18. Criner JA, Mavis A, Chantal C, Shirley C, Jackie H. Rhabdomyolysis the hidden killer. *MEDSURG Nursing* {serial online}. 2002 {cited 2009 des 15} 11(3):138-43. Available from: Jannetti Publications Inc.
19. Lunde PK, HM Schiotz T, O M Sejersted. Skeletal muscle disorders in heart failure. *Acta Physiol Scand* {serial on the internet}. 2001 {cited 2009 des 15}; 171. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11412140>
20. Smith C, Maritza JK, Robert MS, Kathryn HM. The inflammatory response to skeletal muscle injury. *Sports Med* {serial online}. 2008 {cited 2009 des 15} 38(11):947-69. Available from: Adis Data Information.
21. Janssen W. Forensic histopathology. Berlin : Springer-Verlag, 1984 ; 13-53
22. Constatinides P, General pathobiology. Connecticut : Appleton & Lange, 1994; 1 – 58
23. Boutilier RG. Mechanism of cell survival in hypoxia and hypothermia. *The journal of experimental biology* 2001; 204 : 3171 – 3181
24. Steves A, Lowe J. Pathology, 2nd ed. United Kigdom : Elsevier, 2000; 23-33
25. Anonim. Pathology of the cell. Avaible at: <http://www.usc.edu/hsc/dental/PTHL312abc/312a>
26. Arora AS, de Groen P, Emori Y, Gores GJ. A cascade of degradative hydrolase activity contributes to hepatocyte necrosis during anoxia. *Am J Physiol* 1996; 270 (2 Pt 1) : G238 – 45

