

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian adalah ruang lingkup disiplin Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal, Thanatologi forensik, Sitologi forensik.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

4.2.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2013

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini, maka jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorik karena diberi perlakuan berupa perbedaan suhu yaitu suhu kamar dan suhu dingin. Rancangan penelitian yang digunakan adalah dua kelompok berpasangan dengan *time series design* karena pada masing-masing kelompok dilakukan pemeriksaan dengan interval waktu yang telah ditentukan.

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi target

Populasi target adalah hewan coba berupa sapi jantan sehat, umur 2-3 tahun.

Organ yang akan diteliti adalah duktus deferens hewan coba post mortem.

4.4.2 Populasi terjangkau

Populasi terjangkau adalah hewan coba yang baru saja disembelih pada tempat pemotongan hewan di kota Semarang.

4.4.3 Sampel

Sampel penelitian ini adalah semua populasi hewan coba yang mempunyai kriteria inklusi dan eksklusi.

4.4.3.1. Kriteria inklusi

- Sapi jantan sehat
- Tidak ada kelainan anatomik yang tampak

4.4.3.2. Kriteria eksklusi

- Duktus deferens terlalu pendek
- Kelainan morfologi spermatozoa
- Memiliki kelainan anatomik yang tampak

4.4.5 Cara sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*) untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat

badan. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari hewan coba yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga dianggap cukup homogen. Sampel yang diambil representatif (mewakili) keseluruhan populasi yang ada.

4.4.6 Besar sampel

Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan rumus *Federer* :

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

t = Kelompok perlakuan

n = Jumlah sampel tiap kelompok

Banyaknya sampel dalam penelitian ini adalah :

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(2-1) (n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 15+1$$

$$n \geq 16$$

Berdasarkan penghitungan tersebut maka besar sampel minimal yang diperlukan adalah 16 duktus deferens untuk setiap kelompok percobaan. Total sampel yang dibutuhkan adalah 32 sediaan duktus deferens hewan coba post mortem.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah suhu kamar, suhu dingin, dan tingkat waktu kematian.

4.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah motilitas spermatozoa duktus deferens post mortem

4.5.4 Variabel perancu

Variabel perancu dalam penelitian ini adalah waktu pengambilan sampel, kelembapan, cara pengambilan sampel, dan cara membawa sampel, *isolated* organ, umur, dan berat badan.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi operasional variabel

No	Variabel	Definisi operasional variabel	Skala
1	Suhu kamar	Suhu ruangan laboratorium forensik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang diukur dengan menggunakan termometer alkohol pada saat penelitian.	Nominal
2	Suhu dingin	Suhu refrigador (kulkas) yang diukur menggunakan termometer alkohol pada saat penelitian.	Nominal
3	Tingkat waktu kematian	Rentang waktu hewan disembelih sampai dilakukan penelitian. Oleh peneliti ditentukan pada 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam setelah hewan disembelih.	Ratio
4	Jumlah spermatozoa motil pada duktus deferens post mortem	Jumlah spermatozoa motil yang dihitung dengan mengamati 100 spermatozoa pada 6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam post mortem.	Ratio

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

- Duktus deferens sapi jantan
- NaCL fisiologis

4.7.2 Alat

- Termometer
- Ruangan bersuhu kamar
- Lemari es
- Mikroskop cahaya
- *Video camera eye piece*
- *Video converter aps*
- *Video camera receiver*
- Laptop
- Deck glass
- Objek glass
- Pisau scapel
- Pinset bedah
- Stopwatch

4.7.3 Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian perbedaan motilitas spermatozoa duktus deferens post mortem pada suhu kamar dan suhu dingin

4.7.4 Cara Kerja

- a) Hewan coba disembelih seperti lazimnya yang dikerjakan di rumah pemotongan hewan di kota Semarang, waktu hewan disembelih dicatat sebagai 0 jam.
- b) Dilakukan pemisahan kedua testis kanan dan kiri dari badan hewan coba yang telah dilakukan penyembelihan.
- c) Duktus deferens yang menempel pada testis diambil dan dipisahkan dari testis baik yang sebelah kanan maupun yang sebelah kiri.
- d) Duktus deferens secara random yang sebelah kanan atau sebelah kiri dimasukkan kedalam almari es sebagai sampel suhu dingin atau diletakkan dalam tempat terbuka sebagai sampel suhu kamar.
- e) Pengambilan sampel pertama dilakukan 6 jam post mortem baik untuk sampel yang disimpan pada suhu dingin maupun sampel yang disimpan pada suhu kamar.
- f) Pengambilan sampel berikutnya dilakukan pada 12 jam, 18 jam, dan 24 jam post mortem baik untuk sampel yang disimpan pada suhu dingin maupun yang disimpan pada suhu kamar.

Pembuatan preparat:

- g) Lakukan pengambilan spermatozoa dengan cara menekan duktus deferens dengan gerakan searah (cara *milking*) yang diulang sebanyak 2-3 kali.
- h) Sampel yang didapat ditebarkan secara merata pada pertengahan *object glass*.

- i) Berikan 1-2 tetes NaCl fisiologis kemudian tutup dengan *deck glass*.
- j) Preparat siap diperiksa dibawah mikroskop.

Instalasi peralatan :

- k) Pastikan semua instrument terkoneksi dengan baik dan power on.
- l) Aktifkan aplikasi TV *Home Media 3* dengan *double click icon* pada *desktop* sehingga *image* yang ditangkap oleh mikroskop terlihat di layar komputer.
- m) Pastikan TV *Home Media 3* ada pada mode AV sehingga bisa untuk menangkap gambar atau merekam video.
- n) Untuk menangkap gambar tekan *still image acquisition icon* berwarna hitam sedangkan untuk merekam video tekan icon recording berbentuk bulat berwarna merah.

Cara pemeriksaan dibawah mikroskop:

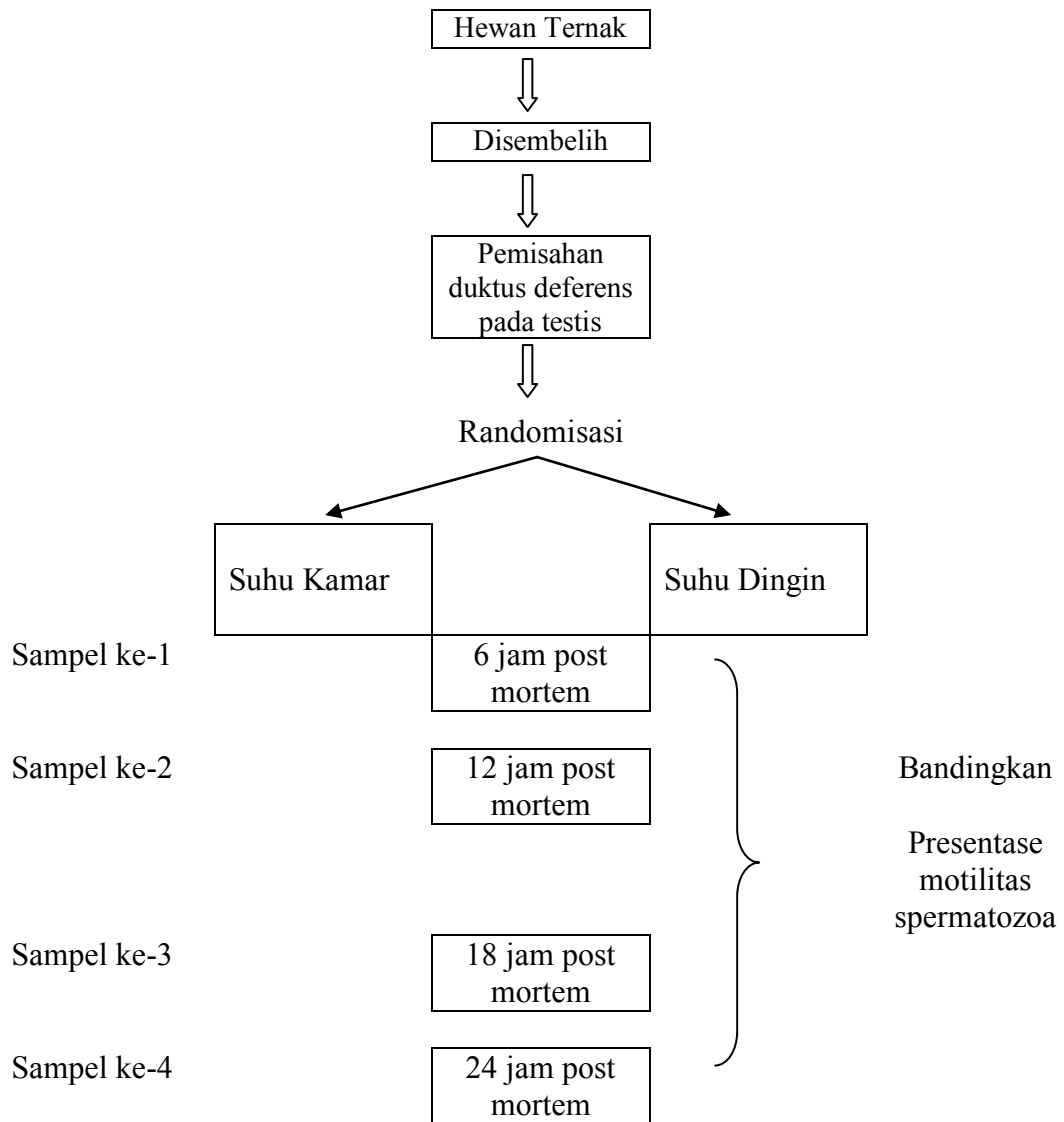
- o) Letakkan preparat dibawah lensa objektif.
- p) Dimulai dengan pembesaran lensa objektif 10x cari *image* yang terjelas kemudian dikunci pada batas maksimal atas supaya preparat tidak pecah karena pergerakan makrometer atau mikrometer terlalu keatas.
- q) Setelah diperoleh bayangan terbaik secara bertahap naikkan pembesaran lensa objektif hingga 100x.
- r) Lakukan pengamatan hingga menemukan 100 spermatozoa. Catat berapa persentase spermatozoa yang motil.

s) Masukkan ke dalam data penelitian

Tabel 2. Kemampuan motilitas sperma post mortem duktus deferens

SAMPEL	TEMPERATUR	6 JAM	12JAM	18JAM	24JAM
		YG MOTIL	YG MOTIL	YG MOTIL	YG MOTIL
1	KAMAR DINGIN				
2	KAMAR DINGIN				
3	KAMAR DINGIN				
4	KAMAR DINGIN				
5	KAMAR DINGIN				
6	KAMAR DINGIN				
7	KAMAR DINGIN				
8	KAMAR DINGIN				
9	KAMAR DINGIN				
10	KAMAR DINGIN				
11	KAMAR DINGIN				
12	KAMAR DINGIN				
13	KAMAR DINGIN				
14	KAMAR DINGIN				
15	KAMAR DINGIN				
16	KAMAR DINGIN				

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer *SPSS 11.5 for windows*. Uji hipotesis menggunakan Uji t berpasangan jika variabel baru hasil transformasi tidak berdistribusi normal, maka dipilih uji Wilcoxon.

4.10 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Januari-Februari	Maret	April-Mei	Juni
Pembuatan Proposal dan ujian proposal	■	■	■	■
Melaksanakan penelitian	■	■	■	■
Input data penelitian	■	■	■	■
Pengolahan data penelitian	■	■	■	■
Output data penelitian	■	■	■	■