

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian ini meliputi bidang ilmu kedokteran forensik dan patologi anatomi.

4.2 Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dan Laboratorium Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-April 2014.

4.3 Rancangan penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini, maka jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorik dengan *tingkatan true experimental studies* dan rancangan penelitian *post test only control group design* yang menggunakan binatang coba sebagai obyek percobaan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah meletakkan kelinci post mortem pada lemari pendingin dengan waktu bertingkat. Penelitian menggunakan 8 kelompok, yaitu 6 kelompok eksperimental dan 2 kelompok kontrol, dengan membandingkan hasil observasi antara kelompok kontrol dengan kelompok eksperimental.

4.4 Populasi dan sampel penelitian

4.4.1 Populasi

Populasi yang diteliti adalah kelinci

4.4.2 Sampel penelitian

4.4.2.1 Kriteria inklusi

- a. Kelinci jantan
- b. Usia 1-2 tahun
- c. Berat badan 0,5-1 kilogram
- d. Dalam keadaan sehat, tidak ada kelainan anatomi yang nampak

4.4.2.2 Kriteria eksklusi

- a. Kelinci dalam keadaan sakit
- b. Kelinci memiliki kelainan anatomi yang tampak

4.4.3 Cara sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (simple random sampling) untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan. Randomisasi dapat langsung dilakukan karena sampel sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga dianggap cukup homogen.

Dalam penelitian ini terdapat delapan kelompok percobaan. Masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor kelinci, sehingga jumlah keseluruhan kelinci yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak tiga puluh dua ekor kelinci. Semuanya diambil secara acak dari kelompok kelinci yang sudah diadaptasi pakan selama seminggu.

4.4.4 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:

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

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

$$7(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 2,1$$

$$n \geq 2,1 + 1$$

$$n \geq 3,1$$

Berdasarkan penghitungan tersebut maka jumlah sampel yang diperlukan adalah 4 kelinci untuk setiap kelompok percobaan. Sehingga besar sampel yang dibutuhkan adalah 32 ekor kelinci untuk 8 kelompok perlakuan.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah durasi waktu pembekuan.

4.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah proses terjadinya pembusukan jaringan hepar pada kelinci.

4.6 Definisi operasional

- a. Lama pembekuan adalah waktu yang dihitung saat mulai memasukkan kelinci pada refrigerator (kulkas) pada suhu -6°C sampai -10°C , yaitu 1 hari dibekukan dan 2 hari dibekukan.

Satuan : hari

- b. Pembusukan hepar yang dimaksud adalah mengamati gambaran histopatologi hepar yang menunjukkan ciri-ciri lisis, dilihat pada lima lapangan pandang, yaitu keempat sudut dan bagian tengah dengan pembesaran 400x setelah dilakukan pengecatan dengan Hematoksilin Eosin.

Penilaian gambaran histopatologi hepar sesuai dengan perubahan struktur histopatologi sebagai berikut :

1. gambaran sel normal
2. gambaran lisis sel :
 - inti piknotik : inti menyusut, tidak teratur, berwarna gelap.
 - inti karioreksis : inti hancur dan meninggalkan pecahan – pecahan zat kromatin yang tersebar dalam sel.
 - inti kariolisis : inti sel yang mati akan kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja.

Skala : rasio

4.7 Cara pengumpulan data

4.7.1 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan untuk percobaan ini:

1. 32 ekor kelinci
2. Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
 - a. Larutan bouin
 - b. Larutan bufer formalin 10%
 - c. Parafin
 - d. Albumin
 - e. Hematoksilin eosin
 - f. Larutan xylol
 - g. Alkohol bertingkat: 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
 - h. Aquades

4.7.2 Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam percobaan ini:

1. Refrigerator (kulkas)
2. Wadah kelinci
3. Masker dan sarung tangan
4. Alat untuk mengambil organ (bedah minor): pisau skapel, pinset bedah, gunting
5. Alat untuk pembuatan preparat patologi anatomi
6. Alat untuk melihat gambaran histopatologi: deckglass, objectglass, mikroskop

4.7.3 Jenis data

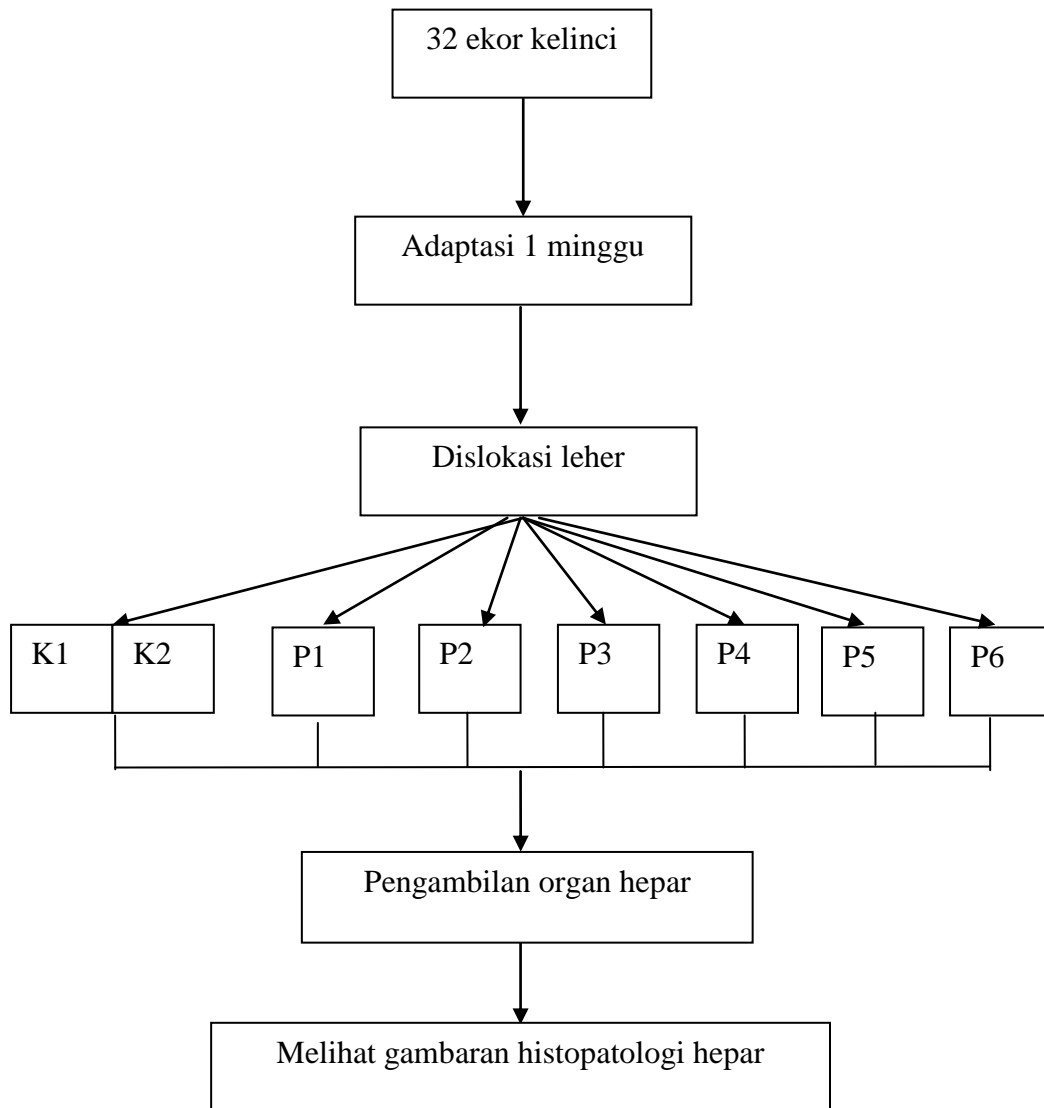
Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian dengan membandingkan gambaran histopatologi hepar pada kelinci setiap kelompok perlakuan.

4.7.4 Cara kerja

1. Kelinci dibagi 8 kelompok, masing-masing kelompok 4 ekor.
2. Masing-masing kelompok kelinci dikandangkan secara individual dan diberi pakan standar serta minum secukupnya selama 1 minggu.
3. Seluruh kelompok kelinci dimatikan dengan cara dislokasi leher.
4. Diberikan perlakuan yang berbeda setiap kelompok:
 - K1 = kelompok kontrol, yaitu kelinci yang tidak diberi perlakuan apapun
 - K2 = kelompok kontrol, yaitu kelinci yang dibiarkan busuk
 - P1 = kelompok perlakuan 1, yaitu kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 1 hari
 - P2 = kelompok perlakuan 2, yaitu kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 1 hari setelah itu dikeluarkan pada suhu ruang selama 1 hari.
 - P3 = kelompok perlakuan 3, yaitu kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 1 hari setelah itu dikeluarkan pada suhu ruang selama 2 hari
 - P4 = kelompok perlakuan 4, yaitu kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 2 hari

- P5 = kelompok perlakuan 5, hepar kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 2 hari setelah itu dikeluarkan pada suhu ruang selama 1 hari.
 - P6 = kelompok perlakuan 6, yaitu kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 2 hari setelah itu dikeluarkan pada suhu ruang selama 2 hari.
5. Setiap kelompok kelinci dibaringkan terlentang dan seluruh permukaan ventral disiram alkohol 70% untuk mengurangi kemungkinan pencemaran ke ruangan atau kontaminasi selama pembedahan. Dibuat irisan kecil pada kulit menggunakan gunting pada medial abdomen. Kulit dirobek dengan pinset ke arah kepala dan ekor sehingga kulit terkelupas, dan tampak peritoneum. Lalu hepar diambil, dan dibersihkan dari jaringan ikat maupun pembuluh darah yang tersisa, lalu diletakkan di cawan petri berisi cairan pengawet formalin 10% buffer.
 6. Hepar lalu diambil untuk dibuat sediaan mikroskopis. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam plastik untuk kemudian diolah mengikuti metoda baku histologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin.
 7. Dari setiap keinci dibuat satu preparat jaringan hepar dan tiap preparat diamati pada lima lapangan pandang yaitu keempat sudut dan bagian tengah dengan pembesaran 400x.
 8. Sasaran yang dibaca adalah sel-sel hepar yang mengalami lisis. Data pemeriksaan dicatat untuk kemudian dianalisis.

4.8 Alur penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

4.9 Analisis data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat distribusi datanya normal atau tidak dengan uji *Shapiro-Wilk*. Bila distribusi datanya normal, varians datanya sama, diuji beda dengan menggunakan statistik

parametrik *One Way Anova*, jika $P < 0,05$ dilanjutkan dengan uji Post Hoc. Bila distribusi datanya tidak normal, atau varians data tidak sama, maka ditransformasi. Jika setelah ditransformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan statistik non-parametrik *Kruskal-Wallis*, jika didapat $P < 0,05$ dilanjutkan dengan uji Post Hoc (*Mann Whitney Test*).

- a) Jika $P < 0,05$; maka ada perbedaan yang bermakna
- b) Jika $P > 0,05$; maka tidak ada perbedaan yang bermakna

4.10 Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan akan dimintakan Ethical Clearance dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Kelinci dipelihara di laboratorium Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Hewan diberi makan dan minum ad libitum. Hewan diterminasi dengan dislokasi leher. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histologi pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian akan ditanggung oleh peneliti.

4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 2. Jadwal penelitian

Kegiatan	Januari – februari	Maret - April	Juni	Juli
Pembuatan proposal dan ujian proposal				
Melaksanakan penelitian				
Input data penelitian				
Pengolahan data penelitian				
Output data penelitian				