

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 akan dilakukan pada bulan maret 2014 – april 2014.

4.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true* eksperimental laboratorik dengan rancangan *the 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 delapan, yaitu dua kelompok control dan enam kelompok eksperimental, dengan membandingkan hasil observasi pada masing – masing kelompok control dan 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. berat badan : 0,5 – 1 kg
- c. Umur : 1-2 tahun
- d. Kelinci dalam keadaan sehat, tidak ada kelainan anatomi yang tampak

4.4.2.2. Kriteria Eksklusi

- a. Kelinci dalam keadaan sakit
- b. Terdapat abnormalitas anatomis 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 diambil dari kelinci yang 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 32 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 :

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

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

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

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

$$n \geq 3,1$$

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 delapan kelompok perlakuan.

4.5. Variabel penelitian

4.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lamanya waktu pembekuan.

4.5.2. Variabel Terikat

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah proses terjadinya pembusukan ginjal pada kelinci.

4.6. Definisi operasional

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

Satuan : hari

- b. Pembusukan ginjal adalah gambaran histopatologi sel ginjal yang menunjukkan ciri-ciri lisis. Jumlah sel ginjal yang mengalami lisis dihitung pada lima lapangan pandang, yaitu keempat sudut dan bagian tengah pada satu preparat yang tampak dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

Penilaian gambaran histopatologi ginjal 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 untuk percobaan ini :

1. 32 ekor Kelinci
2. Bahan – bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan :
 - Larutan bouin
 - Larutan buffer formalin 10 %
 - Paraffin
 - Albumin
 - Hematoksilin Eosin
 - Larutan xylol
 - Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
 - Aquades

4.7.2. Alat

Alat untuk pembekuan

1. Refrigerator
2. Wadah kelinci
3. Masker dan sarung tangan

4. Alat untuk mengambil organ (bedah minor) : pisau, scalpel, pinset, gunting
5. Alat untuk pembuatan preparat patologi anatomi
6. Alat untuk melihat histopatologi ginjal : Deck glass, objek glass, mikroskop

4.7.3. Jenis Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian dengan membandingkan gambaran histopatologi ginjal kelinci setiap kelompok perlakuan.

4.7.4. Cara Kerja

1. Hewan percobaan kelinci sebanyak 32 ekor dibagi menjadi 8 kelompok, yang masing – masing kelompok terdiri atas empat ekor.
2. Masing – masing kelompok kelinci dikandangkan secara individual dan diberi pakan standar serta minum secukupnya selama 1 minggu.
3. Hewan coba dimatikan dengan cara dislokasi leher
4. Dibaringkan terlentang dan seluruh permukaan ventral disiram alcohol 70% untuk mengurangi kemungkinan pencemaran dari ruangan atau kontaminasi selama pembedahan. Dibuat irisan kecil pada kulit menggunakan gunting pada medial abdomen. Kulit dirobek dengan scalpel kearah kepala dan ekor kelinci sehingga kulit terkelupas, dan tampak

peritoneum. Lalu ginjal diambil, dan dibersihkan dari jaringan ikat maupun pembuluh darah yang tersisa, lalu diletakkan dicawan petri

5. Diberikan perlakuan yang berbeda setiap kelompok :

K_1 = kelompok control, yaitu ginjal kelinci yang tidak diberi perlakuan apapun

K_2 = kelompok control, yaitu ginjal kelinci yang dibiarkan busuk

P_1 = kelompok perlakuan 1, yaitu ginjal kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 1 hari

P_2 = kelompok perlakuan 2, yaitu ginjal kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 1 hari kemudian dikeluarkan di suhu kamar selama 1 hari

P_3 = kelompok perlakuan 3, yaitu ginjal kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 1 hari kemudian dikeluarkan di suhu kamar selama 2 hari

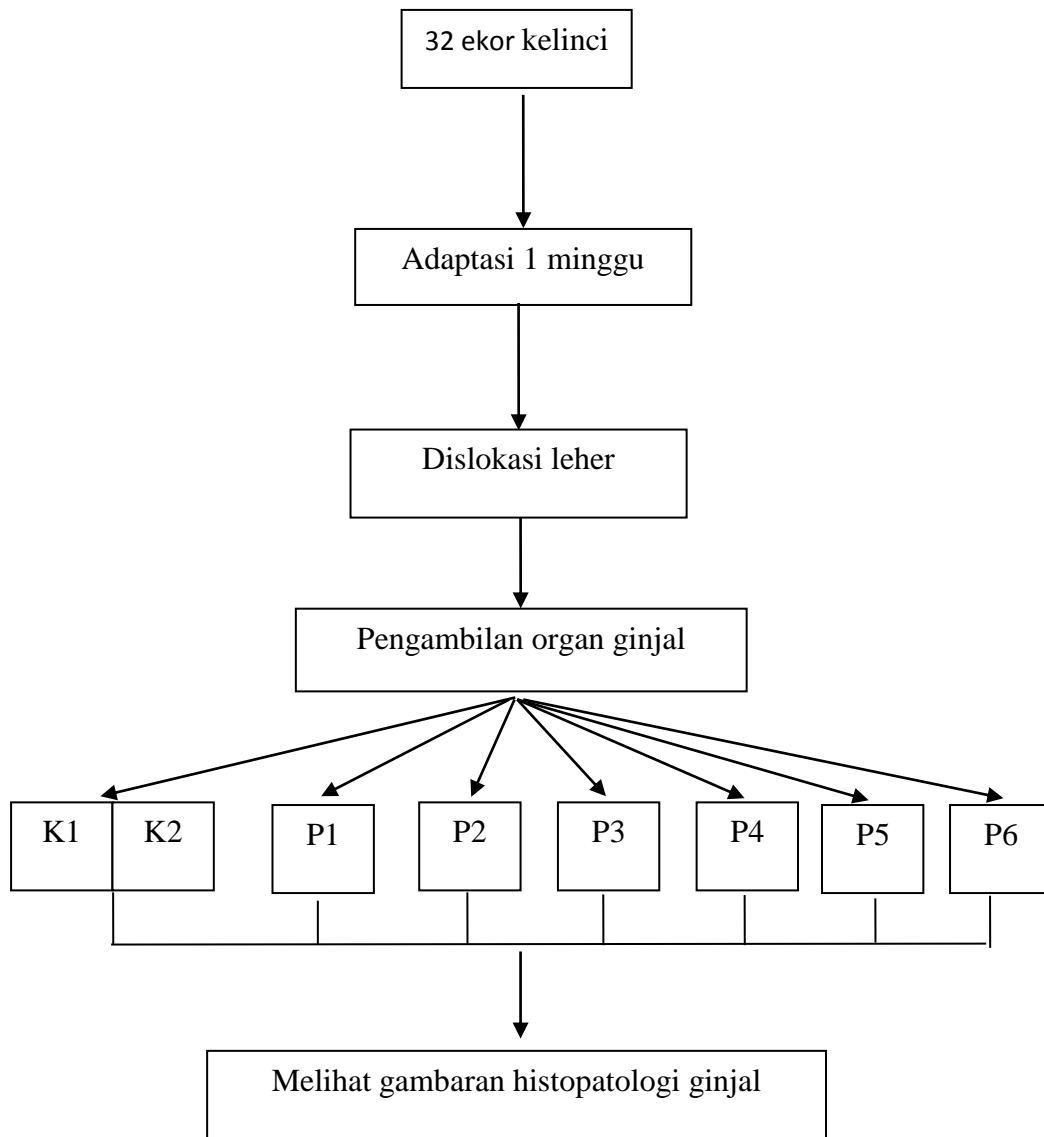
P_4 = kelompok perlakuan 4, yaitu ginjal kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 2 hari

P_5 = kelompok perlakuan 5, yaitu ginjal kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 2 hari kemudian dikeluarkan di suhu kamar selama 1 hari

P_6 = kelompok perlakuan 6, yaitu ginjal kelinci yang dibekukan pada suhu -6°C sampai -10°C selama 2 hari kemudian dikeluarkan di suhu kamar selama 2

6. Setelah mendapat perlakuan tersebut, kemudian dibuat preparat yang diproses dengan metode baku histologi, lalu dilakukan pemeriksaan mikroskopis.
7. Dari setiap kelinci dibuat dua preparat jaringan ginjal dan tiap preparat dibaca dalam lima lapangan pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan pembesaran 400x.
8. Sasaran yang dibaca adalah sel yang mengalami pembusukan (lisis) dengan melihat prosentase pembusukan sel ginjal kelinci. Data pemeriksaan kemudian dicatat 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.

Jika didapatkan hasil yang berbeda bermakna, maka ada perbedaan yang bermakna pada gambaran histopatologi ginjal kelinci pada pembekuan selama 1 hari dan 2 hari.

Sebaliknya bila didapatkan hasil yang tidak berbeda bermakna, maka tidak ada perbedaan yang bermakna pada gambaran histopatologi ginjal kelinci pada pembekuan selama 1 hari dan 2 hari.

4.10. Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan akan dimintakan Ethical Clearence 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

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