

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian pada ilmu kedokteran bidang forensik dan patologi anatomi.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

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

Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2016.

#### **3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only kontrol group design* yang menggunakan binatang coba sebagai obyek percobaan.

Perlakuan dalam penelitian adalah melihat adanya perbedaan gambaran histopatologi saluran napas bawah pada mencit Balb/C yang diberi paparan api intravital, perimortem, dan postmortem selama 10 detik dan 20 detik. Keluaran yang dinilai adalah gambaran histopatologi saluran napas bawah.

### **3.4 Sampel Penelitian**

#### **3.4.1 Sampel Penelitian**

##### **3.4.1.1 Kriteria Inklusi**

- 1) Mencit jenis Balb/C jantan
- 2) Berat badan : 20-30 gram
- 3) Umur 2 bulan
- 4) Mencit aktif

##### **3.4.1.2 Kriteria Eksklusi**

- 1) Mencit dalam keadaan sakit
- 2) Mencit memiliki kelainan anatomi
- 3) Mencit mati sewaktu mendapat perlakuan

#### **3.4.2 Cara Pengambilan Sampel**

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.

### 3.4.3 Besar Sampel

Pada penelitian eksperimental, besar jumlah sampel menurut ketentuan WHO adalah minimal 5 ekor sampel tiap kelompok hewan coba dan kemudian ditambah 2 ekor sampel sebagai cadangan.

Berdasarkan penghitungan tersebut maka jumlah sampel yang diperlukan adalah 7 mencit untuk setiap kelompok percobaan. Sehingga besar sampel yang dibutuhkan adalah 49 ekor mencit untuk 7 kelompok perlakuan.

## 3.5 Variabel Penelitian

### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah paparan api.

### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi saluran napas bawah mencit Balb/C.

## 3.6 Definisi Operasional

**Tabel 4.** Definisi operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1.	Paparan api	1. Pemberian paparan api dengan menggunakan lilin pada daerah muka mencit selama 10 detik	Ordinal

	2. Pemberian paparan api dengan menggunakan lilin pada daerah muka mencit selama 20 detik	
2. Waktu pemaparan	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Intravital : segera setelah mencit terbius;</li> <li>- Perimortem : 10 menit setelah mencit diterminasi; dan</li> <li>- Postmortem : 30 menit setelah mencit diterminasi</li> </ul>	Ordinal
3. Gambaran histopatologi saluran napas bawah, mulai dari bronkus, dan alveolus	<p>1. Dilatasi vaskuler</p> <p>Pelebaran pembuluh darah akibat otot-otot polos pada dinding pembuluh darah mengalami relaksasi. Vasodilatasi adalah salah satu manifestasi pertama inflamasi akut.</p> <p>2. Serbukan sel radang</p> <p>Inflamasi adalah reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera yang melibatkan banyak mediator. Infiltrasi sel-sel inflamatorik terjadi ketika sel-sel inflamatorik menyusup di sekitar pembuluh darah dalam keadaan inflamasi akut maupun kronik.</p> <p>3. Jelaga</p> <p>Inhalasi asap akan menyebabkan deposisi partikel karbon.</p> <p>Dilatasi vaskuler, sel radang dan jelaga</p> <p>Gambaran mikroskopis dinilai dengan sistem skoring, dimana:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>0 = tidak ada</li> <li>1 = sedikit</li> <li>2 = sedang</li> <li>3 = banyak</li> </ul>	Ordinal

### 3.7 Cara Pengumpulan Data

#### 3.7.1 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan untuk percobaan ini:

1. 49 ekor mencit Balb/C
2. Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
  - a. Larutan Bouin
  - b. Larutan buffer formalin 10%
  - c. Parafin
  - d. Albumin
  - e. Hematoksilin Eosin
  - f. Larutan xylol
  - g. Alkohol bertingkat: 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
  - h. Aquades
3. Obat untuk anestesi menggunakan larutan Eter
4. Serbuk gergaji
5. Pakan dan minum standar mencit
6. *Deckglass* dan *objectglass*

#### 3.7.2 Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam percobaan ini:

1. Korek api

2. Lilin
3. Pinset
4. Kapas/kassa
5. Kaleng dan penutup kaleng
6. Stoples transparan dan penutup stoples
7. Kandang mencit
8. Sendok teh
9. Masker dan sarung tangan
10. Plastik, spidol, dan label kertas
11. Alat untuk mengambil organ (bedah minor): pisau skapel, pinset bedah, gunting, wadah
12. Alat untuk pembuatan preparat patologi anatomi
13. Alat untuk melihat gambaran histopatologi: mikroskop

### **3.7.3 Jenis Data**

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian dengan melihat perbedaan gambaran histopatologi saluran napas bawah mencit Balb/C pada setiap kelompok perlakuan.

### **3.7.4 Cara Kerja**

1. Mencit dibagi menjadi 7 kelompok, masing-masing kelompok 7 ekor.
2. Masing-masing kelompok mencit dikandangkan secara individual dan diberi pakan standar serta minum secukupnya selama 1 minggu.
3. Hewan coba diberikan perlakuan yang berbeda setiap kelompok:

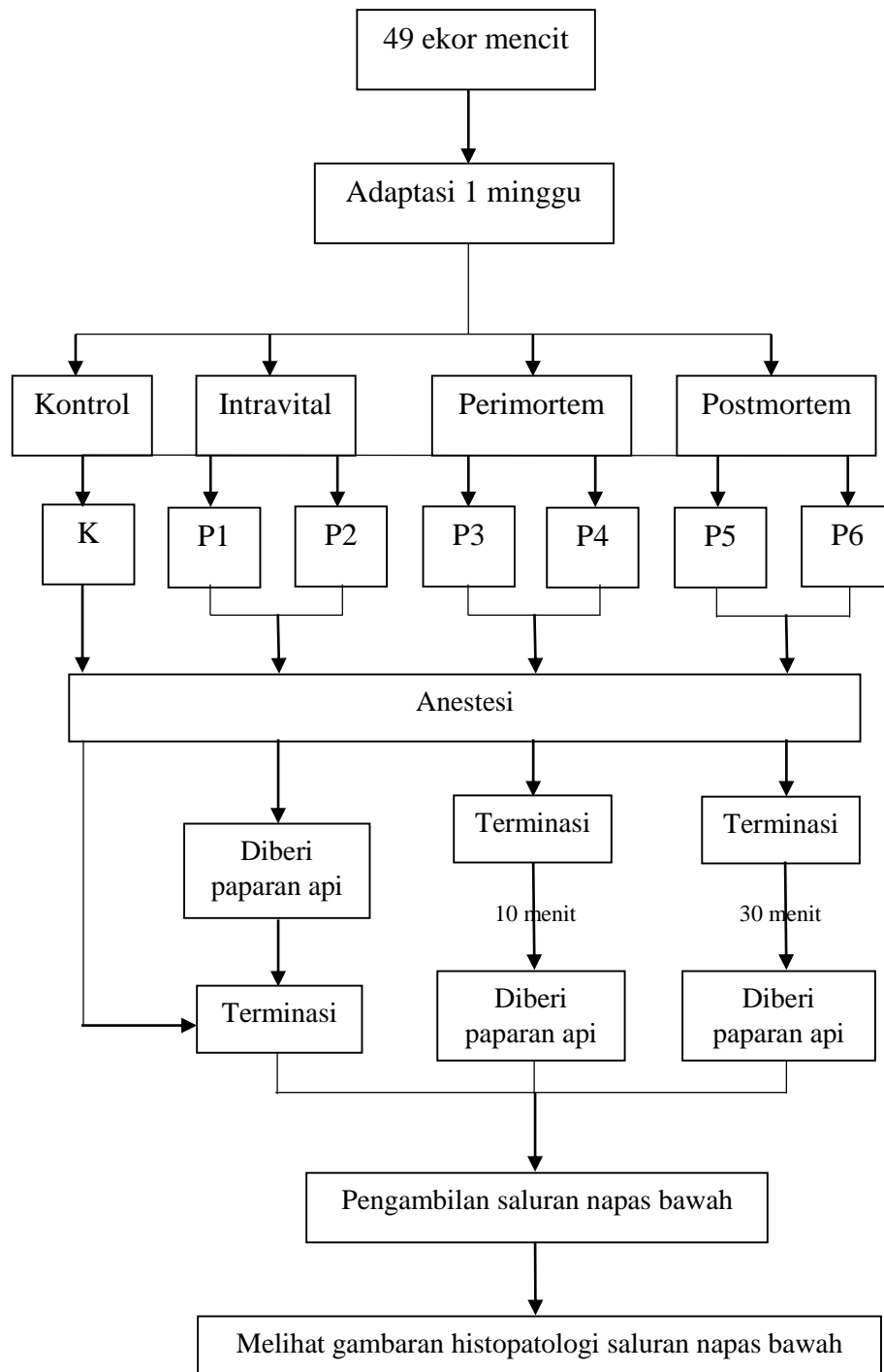
- K = kelompok kontrol, yaitu mencit yang tidak diberi perlakuan apapun.
  - P1 = kelompok perlakuan 1, yaitu mencit yang diberi paparan api intravital selama 10 detik.
  - P2 = kelompok perlakuan 2, yaitu mencit yang diberi paparan api intravital selama 20 detik.
  - P3 = kelompok perlakuan 3, yaitu mencit yang diberi paparan api perimortem selama 10 detik.
  - P4 = kelompok perlakuan 4, yaitu mencit yang diberi paparan api perimortem selama 20 detik.
  - P5 = kelompok perlakuan 5, yaitu mencit yang diberi paparan api postmortem selama 10 detik.
  - P6 = kelompok perlakuan 6, yaitu mencit yang diberi paparan api postmortem selama 20 detik.
4. Kelompok kontrol di anestesi lalu diterminasi tanpa diberi perlakuan apapun. Anestesi dilakukan dengan cara meletakkan kapas di dalam stoples pada bagian dasar, lalu kapas dibasahi dengan satu sendok teh larutan eter. Kemudian mencit yang akan di anestesi dimasukkan kedalam stoples dan ditutup rapat. Mencit dibiarkan selama 1 menit, apabila mencit masih belum teranestesi, ditambahkan lagi satu sendok eter pada kapas.
5. Sebelum mendapat perlakuan, hewan coba kelompok P1 dan P2 di anestesi terlebih dahulu supaya tidak merasakan sakit.

6. Setelah di anestesi, mencit diberi paparan api, dengan cara memasukkan mencit ke kaleng, lalu memasukkan lilin yang telah dibakar dan memposisikan api pada daerah muka selama 10 detik pada kelompok P1, dan 20 detik pada kelompok P2. Kaleng ditutup selama pembakaran supaya asap tetap berada di dalam kaleng. Setelah selesai memberikan perlakuan, mencit di terminasi dengan teknik anestesi overdosis.
7. Teknik anestesi overdosis dilakukan dengan cara menuangkan 10-20 ml larutan eter ke dalam kapas yang telah diletakkan di dalam stoples. Mencit yang dikorbankan selanjutnya dimasukkan ke dalam stoples, kemudian ditutup rapat. Dilakukan pengamatan terhadap napas dan denyut jantung. Apabila mencit sudah tidak bernapas, tutup stoples dibuka dan dilakukan pengamatan kembali denyut jantung dan napas untuk memastikan hewan telah benar-benar mati.
8. Pada kelompok terpapar luka bakar secara perimortem, mencit di anestesi terlebih dahulu, kemudian diterminasi. Sesaat setelah terminasi, kelompok P3 dan P4 diberi paparan luka bakar seperti pada kelompok P1 dan P2.
9. Pada kelompok terpapar luka bakar secara postmortem, mencit dianestesi terlebih dahulu, kemudian diterminasi. Mencit dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu, kelompok P5 dan P6 diberi paparan luka bakar seperti kelompok P1 dan P2.



10. Setiap kelompok mencit dibaringkan telentang untuk kemudian dilakukan pembedahan. Saluran napas bawah diambil dan dibersihkan dari jaringan ikat maupun pembuluh darah yang tersisa. Lalu diletakkan pada wadah dengan diberi larutan formalin 10% dan setiap wadah diberi label nama organ dan perlakuannya.
11. Saluran napas bawah diambil untuk dibuat sediaan mikroskopis. Selanjutnya diolah mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan hematoxilin eosin.
12. Dari setiap mencit dibuat satu preparat saluran napas bawah, dan tiap preparat diamati pada lima lapangan pandang yaitu keempat sudut dan bagian tengah dengan pembesaran 400x
13. Sasaran yang dibaca adalah dilatasi vaskuler, serbuk sel radang dan jelaga.
14. Data pemeriksaan dicatat untuk kemudian dianalisis.

### 3.8 Alur Penelitian



**Gambar 12.** Alur penelitian

### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat distribusinya datanya normal atau tidak dengan uji *Saphiro-Wilk*. Bila distribusi normal, varians datanya sama, di uji beda dengan menggunakan statistik parametrik *One Way Anova*, jika  $P \leq 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Bila distribusi datanya tidak normal, atau varians data tidak sama, maka di transformasi. Jika setelah di transformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan statistik non-parametrik *Kruskal-Wallis*, jika didapat  $P \leq 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Mann Whitney Test)*.

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

### 3.10 Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan akan dimintakan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan Rumah Sakit Umum Pusat dr.Kariadi Semarang. Mencit diadaptasi di laboratorium Parasitologi dan akan diberi perlakuan di Laboratorium Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Hewan diberi makan dan minum *ad libitum*. Hewan diterminasi dengan teknik anestesi overdosis. Pembuatan preparat sesuai dengan metode

baku histologi pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian akan ditanggung peneliti.

### 3.11 Jadwal Penelitian

**Tabel 5.** Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan 1	Bulan 2	Bulan 3	Bulan 4	Bulan 5	Bulan 6
Penyusunan proposal						
Seminar proposal						
Persiapan penelitian						
Penelitian						
Input data penelitian						
Pengolahan data penelitian						
Penulisan laporan						
Seminar hasil						