

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pada bidang Ilmu Kedokteran Forensik dan Patologi Anatomi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian di lakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan dilakukan pembuatan *slide* di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Nasional Diponegoro yang dilanjutkan dengan pembacaan *slide* patologi anatomi di RSUP Dokter Kariadi pada bulan Juli hingga Agustus tahun 2018.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

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

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi Target

Populasi target adalah tikus Wistar.

3.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah tikus Wistar yang terdapat pada Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

3.4.3 Sampel Penelitian

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

- 1) Tikus Wistar jantan.
- 2) Usia 8-12 minggu.
- 3) Berat 150-250 gram.

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus tidak aktif bergerak sebelum diberikan anestesi.
- 2) Tikus memiliki kelainan anatomi.
- 3) Terdapat jejas pada leher tikus.

3.4.4 Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*) untuk menghindari bias akibat variasi usia dan berat tikus. Randomisasi dapat langsung dilakukan karena sampel telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga dianggap sudah cukup homogen.

3.4.5 Besar Sampel

Perhitungan besar sampel tikus Wistar ditentukan dengan rumus Federer sebagai berikut:

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

$$(4 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$3(n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok uji

n : besar sampel tiap kelompok uji

Besar sampel tikus Wistar yang diperlukan pada penelitian ini adalah sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus Wistar. Namun berdasarkan pertimbangan peneliti maka setiap kelompok telah ditambahkan 1 ekor tikus Wistar sebagai cadangan, sehingga besar sampel tikus Wistar yang diperlukan adalah sebanyak 28 ekor tikus Wistar.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah interval waktu penggantungan postmortem.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah gambaran histopatologi kulit leher tikus Wistar.

3.6 Definisi Operasional

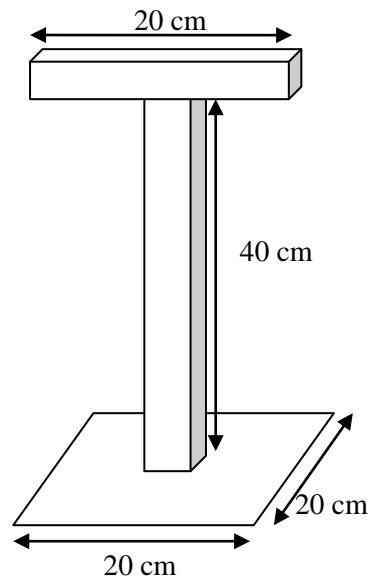
Tabel 3. Definisi Operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Kematian	-	-

Kematian adalah berakhirnya suatu kehidupan pada organisme hidup akibat kerusakan pada sistem sirkulasi, sistem respirasi, dan sistem saraf, yang dikonfirmasi dengan memeriksa denyut jantung, laju pernafasan, dan refleks kornea.

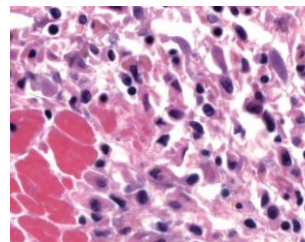
2.	Penggantungan	-	-
----	---------------	---	---

Penggantungan dilakukan menggunakan penyangga yang terbuat dari kayu dengan tinggi 40 cm dan panjang 20 cm, serta tali pengikat berupa benang nilon yang memiliki ketebalan 2 mm. Jenis penggantungan merupakan penggantungan lengkap dengan letak simpul tipikal dan dengan durasi



Gambar 8. Penyangga penggantungan

	penggantungan selama 1 jam.		
3.	Interval waktu mulai digantung saat postmortem.	- 1 jam postmortem. - 2 jam postmortem. - 3 jam postmortem.	Ordinal
4.	Infiltrasi leukosit Keberadaan sel-sel radang merupakan satu-satunya standar temuan histologis antemortem. ²¹	Penilaian infiltrasi leukosit dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapangan pandang untuk kemudian dihitung rata-rata.	Numerik



Gambar 9. Infiltrasi leukosit²⁹

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- 1) 28 ekor tikus Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.
- 2) Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
 - Larutan Bouin
 - Larutan buffer formalin 10%

- Paraffin
 - Albumin
 - Hematoksilin Eosin (HE)
 - Larutan xylol
 - Alkohol bertingkat: 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
 - Aquades
- 3) Obat anestesi menggunakan ether
 - 4) Pakan dan minum standar tikus

3.7.2 Alat

- 1) Kandang tikus
- 2) Wadah stoples
- 3) Wadah parafin
- 4) Masker dan sarung tangan
- 5) Plastik, spidol, dan label kertas
- 6) Alat bedah minor: pisau skalpel, pinset bedah, gunting bedah
- 7) Alat untuk pembuatan preparat patologi anatomi: *deckglass* dan *objectglass*
- 8) Alat untuk melihat gambaran histopatologi: mikroskop
- 9) Benang nilon dengan ketebalan 2 mm
- 10) Alat penggantung

3.7.3 Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian dengan melihat gambaran histopatologi kulit leher tikus Wistar pada setiap kelompok perlakuan.

3.7.4 Cara Kerja

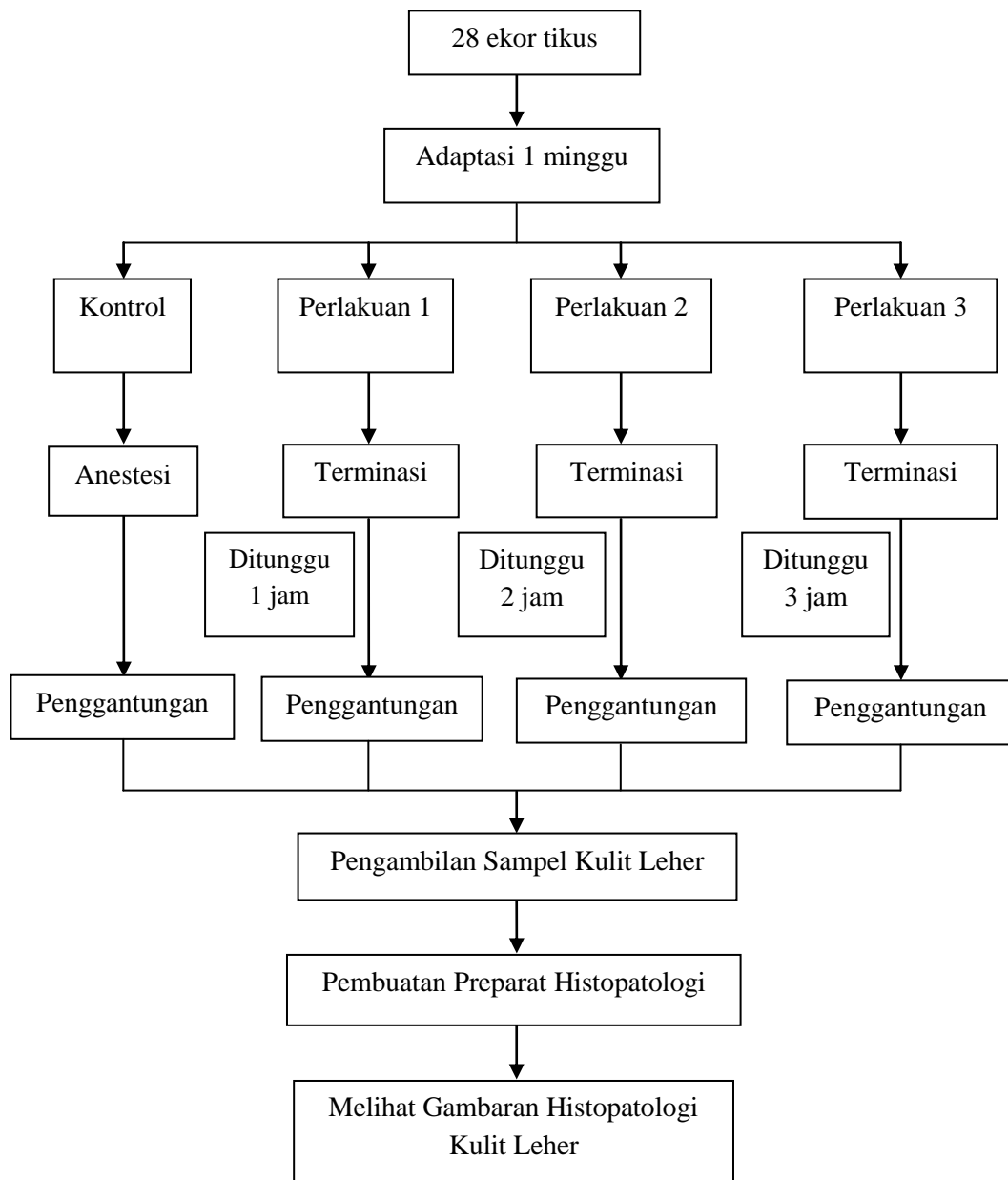
- 1) 28 ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok berjumlah 7 ekor dengan keterangan sebagai berikut.
 - Kelompok K (kontrol), yaitu tikus yang digantung antemortem setelah mendapat anestesi dosis non-lethal.
 - Kelompok P1 (perlakuan 1), yaitu tikus yang digantung saat postmortem 1 jam setelah diterminasi menggunakan anestesi dosis letal dengan durasi penggantungan selama 1 jam.
 - Kelompok P2 (perlakuan 2) yaitu tikus yang digantung saat postmortem 2 jam setelah diterminasi menggunakan anestesi dosis letal dengan durasi penggantungan selama 1 jam.
 - Kelompok P3 (perlakuan 3) yaitu tikus yang digantung saat postmortem 3 jam setelah diterminasi menggunakan anestesi dosis letal dengan durasi penggantungan selama 1 jam.
- 2) Masing-masing kelompok tikus dikandangkan dan diberi pakan standar serta minum secukupnya selama 1 minggu
- 3) Kelompok kontrol terlebih dahulu dilakukan anestesi dosis non-lethal menggunakan larutan ether dengan cara meletakkan kapas yang sudah dibasahi dengan 5 ml larutan ether di dasar stoples dan dibiarkan selama 5

menit. Tikus kemudian di gantung dengan tali yang dikaitkan pada alat penggantung selama 1 jam.

- 4) Kelompok P1 terlebih dahulu dilakukan terminasi dengan anestesi dosis letal menggunakan larutan ether dengan cara meletakkan kapas yang sudah dibasahi dengan 10 ml larutan ether di dasar stoples. Stoples ditutup rapat. Setelah tikus dipastikan telah mati 1 jam kemudian tikus di gantung dengan tali yang dikaitkan pada alat penggantung selama 1 jam.
- 5) Kelompok P2 terlebih dahulu dilakukan terminasi dengan anestesi dosis letal dengan cara yang sama dengan kelompok P1. Setelah tikus dipastikan telah mati 2 jam kemudian tikus di gantung dengan tali yang dikaitkan pada alat penggantung selama 1 jam.
- 6) Kelompok P3 terlebih dahulu dilakukan terminasi dengan anestesi dosis letal dengan cara yang sama dengan kelompok P1. Setelah tikus dipastikan telah mati 3 jam kemudian tikus di gantung dengan tali yang dikaitkan pada alat penggantung selama 1 jam.
- 7) Setiap kelompok tikus kemudian dibaringkan telentang di atas wadah parafin untuk dilakukan pengambilan sampel kulit leher. Sampel kulit diambil pada leher bagian depan, yaitu pada bekas jeratan, dengan ukuran $1,5 \times 1,5$ cm yang meliputi lapisan epidermis, dermis, dan subkutan.
- 8) Sampel kulit leher difiksasi pada larutan formalin 10% untuk selanjutnya dibuat sediaan mikroskopis dengan mengikuti metode baku histologi menggunakan pewarnaan hematoksilin eosin (HE).

- 9) Setiap sedian dibaca menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapangan pandang. Leukosit yang ditemukan kemudian dihitung dan diambil rata-rata.
- 10) Data pemeriksaan kemudian dicatat dan dilakukan analisis statistik.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 10. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data infiltrasi leukosit yang berskala numerik dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Karena data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene test* dan uji *One Way ANOVA Post Hoc Bonferroni*. Penghitungan statistika menggunakan perangkat lunak statistika pada komputer.

3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dokter Kariadi.

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 4. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan -									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Penyusunan Proposal	■	■	■							
Seminar Proposal				■						
Persiapan Penelitian				■	■	■				
Penelitian				■	■	■	■			
<i>Input</i> data penelitian								■	■	
Pengolahan data penelitian								■	■	

