

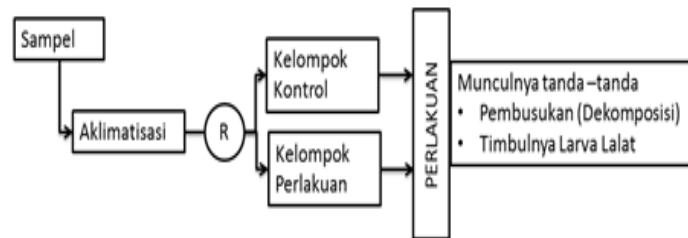
BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan hewan coba sebagai objek percobaan. Skema rancangan penelitian untuk melihat tanda pasti kematian berupa dekomposisi serta pertumbuhan larva lalat pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar betina yang dibagi menjadi dua kelompok, kelompok pertama sebagai kontrol, kelompok kedua sebagai perlakuan. Kedua kelompok diberikan anestesi umum menggunakan *ketamine* dan *xylazine* secara intraperitoneal. Pada kelompok perlakuan dilakukan “*Cardial Puncture*” dengan menggunakan spuit setelah dilakukan pembiusan. Sebagai pembanding, kelompok kontrol tidak dilakukan pengambilan darah. Setelah tahap ini, kedua kelompok di terminasi dengan dislokasi servikal.

Bagan



3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

Kelompok Kontrol = Hanya dibius menggunakan *ketamine* dan *xylazine* intraperitoneal kemudian diterminasi dengan cara dislokasi servikal.

Kelompok Perlakuan = Dibius menggunakan *ketamine* dan *xylazine* kemudian dilakukan pengambilan darah dengan metode *cardial puncture* dan diterminasi dengan cara dislokasi servikal.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar betina

3.2.2 Sampel

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar betina sejumlah 16 ekor tikus yang diperoleh dari peternakan tikus Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Penelitian yang menggunakan hewan coba sebagai sampel hendaknya memperhatikan prinsip *Replacement, Reduction, Refinement*. *Reduction* diartikan sebagai tindakan meminimalisir pemanfaatan hewan coba dalam penelitian namun tetap mendapatkan hasil yang optimal. Sampel minimal dihitung dengan menggunakan formula *Freeder experimental size*:³¹

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

Keterangan :

n : Jumlah sampel minimal yang digunakan

t : Jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan rumus diatas, maka ditentukan jumlah sampel minimal yang digunakan adalah :

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

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

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

$$n \geq 15+1$$

$$n \geq 16 \text{ ekor}$$

Setelah jumlah sampel terpenuhi, dilakukan *randomize* pada sampel tersebut dengan metode *Simpel Random Sampling*.

3.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.3.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar betina
2. Umur 90-120 hari
3. Berat 120 gr -200 gr
4. Tikus dalam kondisi sehat : gerakan-gerakan makan, minum, keadaan tenang, tidak ada luka dan cacat

3.3.2 Kriteria Eksklusi

Tikus memiliki kelainan anatomi

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Tikus (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar betina yang dibius dan diambil darahnya.

3.4.2 Variabel Terikat

Proses dekomposisi dan panjang larva lalat

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Penelitian

NO.	Variabel	Definisi Operasional	Nilai	Skala
1	Kehilangan Darah (Syok Hipovolemik)	Kehilangan darah yang dimaksud adalah suatu kondisi dimana tubuh kehilangan banyak cairan (darah) yang menyebabkan kegagalan multi organ karena volume darah dalam sirkulasi dan perfusi jaringan tidak adekuat.	<p><i>Stage 1</i> (ringan) : Kehilangan darah sebanyak $\leq 15\%$ dari total darah di dalam tubuh.</p> <p><i>Stage 2</i> (sedang) : Kehilangan darah sebanyak 15-30% dari total darah di</p>	Rasio

			<p>dalam tubuh.</p> <p><i>Stage 3 (berat) :</i></p> <p>Kehilangan darah 30-40% dari total darah di dalam tubuh.</p> <p><i>Stage 4 (sangat berat) :</i> Kehilangan darah \geq 40% dari total darah di dalam tubuh.</p> <p>(<i>Staging</i> berdasarkan derajat <i>shock hypovolemic</i> oleh WHO)</p>	
--	--	--	--	--

2	Proses Dekomposisi	<p>proses dekomposisi yang dimaksud adalah dilakukan pengamatan terhadap tahapan pembusukan yang diamati secara makroskopis.</p>	<p>Tahap 1 : Tampak warna kehijauan pada dinding perut sebelah kanan</p> <p>Tahap 2 : Terlihat warna kehijauan menyebar ke area perut dan dada</p> <p>Tahap 3 : Terjadi pembengkakan pada tubuh tikus</p> <p>Tahap 4 : Keluarnya cairan darah</p> <p>Tahap 5 : Munculnya Larva Lalat pada area tertentu</p>	Rasio
---	--------------------	--	---	-------

			<p>Tahap 6 : Munculnya Larva Lalat pada hampir seluruh area tubuh</p> <p>Tahap 7 : Munculnya Larva Lalat pada seluruh area tubuh</p> <p>(<i>Staging</i> berdasarkan Buku Pedoman Ilmu Kedokteran Forensik Dr. Abdul Mun'im Idries dan kesepakatan Departemen Forensik FKUKI)</p>	
--	--	--	--	--

3	Panjang Larva Lalat	panjang larva lalat yang dimaksud adalah ukuran panjang larva lalat yang dapat diamati pada saat terjadinya proses pembusukan	Pengukuran panjang larva lalat dalam satuan <i>centimeter</i> (cm)	Numerik
---	---------------------	---	--	---------

3.6 Materi/Bahan dan Alat Penelitian

3.6.1 Materi/Bahan

1. Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar betina
2. *Ketamine* dan *xylazine* (50–75 mg/kg + 10 mg/kg i/p)
3. Pakan tikus berupa pellet (*Charoen Pokphan 511 Starter*)
4. Air mineral

3.6.2 Alat

1. Kandang tikus
2. S spuit 1 cc dan 3 cc
3. *Handscoon* Steril
4. Masker
5. Timbangan Elektronik
6. Pinset

7. Pencukur
8. *Termometer Infrared*
9. *Termometer ruangan*
10. *Higrometer*
11. Jangka sorong

3.7 Prosedur Pengumpulan Data

3.7.1 Persiapan dan pembagian tikus

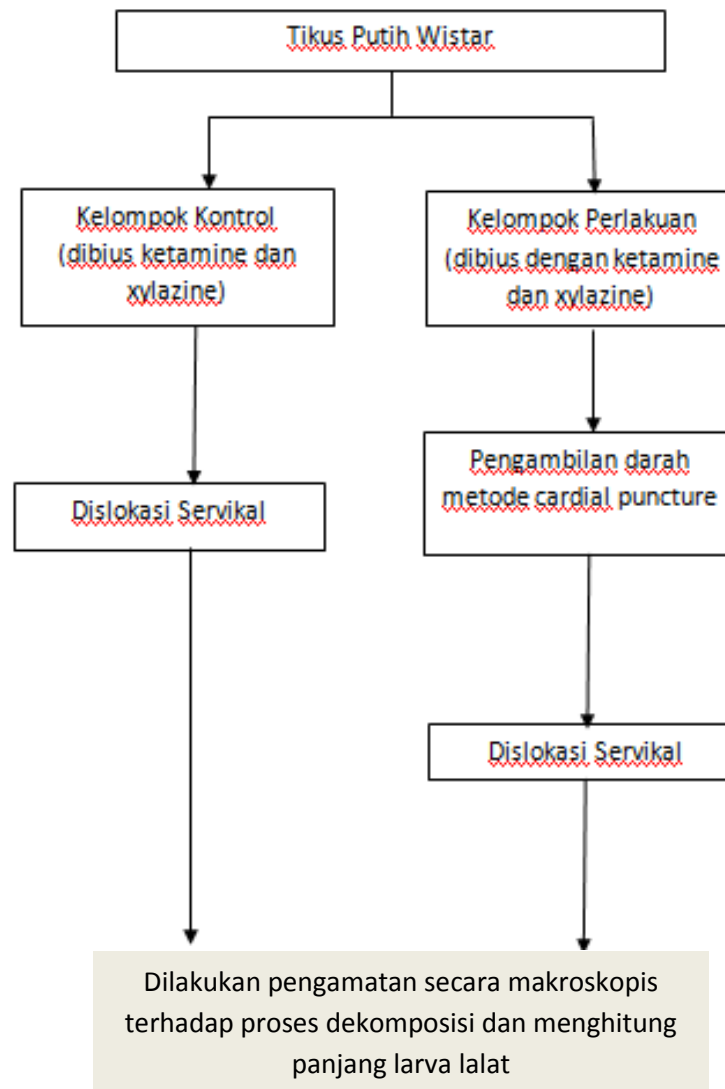
Untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan maka pengambilan sampel dilakukan penghitungan umur dari tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar betina semenjak lahir sehingga dipastikan umur tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur Wistar betina diatas 3 bulan. Selanjutnya dilakukan pengukuran berat badan dan memastikan jenis kelamin. Selama kondisi standar semua tikus diberikan pakan tikus dan air secukupnya.

3.7.2 Jenis Data

Penelitian ini menggunakan jenis data primer yang diperoleh dari tahapan proses pembusukan (dekomposisi) dan menghitung panjang larva lalat.

3.8 Alur Penelitian

Bagan 3.2 Alur Penelitian



3.9 Penggunaan Obat Anestesi, Dislokasi Servikal, dan Langkah Kerja

Anestesi umum (*General Anesthesia*) dapat diinduksi menggunakan berbagai macam obat dan cara pemberian. Pemberian satu macam obat saja sebenarnya sudah dapat mencapai kriteria *general anesthesia* seperti hilangnya kesadaran, analgesia, refleks berkurang, dan relaksasi otot skeletal, tetapi pemberian kombinasi lebih menguntungkan karena efek samping dari penggunaan satu macam obat saja dapat dikurangi. Penggunaan beberapa macam obat bius yang dikombinasikan dengan dosis rendah, mengurangi efek kepada semua sistem tubuh yang terjadi pada saat anestesi berlangsung dibanding dengan *single agent* saja.³²

Pada penelitian ini kami memilih kombinasi *ketamine* dan *xylazine* dengan dosis 50-75 mg/kg + 10mg/kg dikarenakan lebih direkomendasikan oleh banyak jurnal dan lebih mudah didapat oleh peneliti. Pemberian obat bius dilakukan secara *intraperitoneal* karena injeksi *intraperitoneal* lebih mudah ditoleransi oleh tikus. Pemberian lewat intravena sulit dilakukan karena ukuran tubuh tikus yang kecil.³²

Setelah dilakukan pembiusan, kelompok percobaan akan di *euthanasia* menggunakan metode dislokasi servikal. Menurut AVMA (*American Veterinary Medical Association*), metode dislokasi servikal sudah digunakan selama bertahun-tahun untuk mengakhiri hidup hewan percobaan. Metode ini digunakan untuk mematikan burung kecil, tikus, dan kelinci dengan berat kurang dari 200g. Metode dilakukan dengan meletakkan jari jempol dan

telunjuk di leher (dasar tengkorak), sedangkan tangan yang lain menarik ekor atau kaki dari tikus, dan dilakukan dengan cepat yang menyebabkan pemisahan vertebra servikal dari tengkorak. Data menunjukkan aktivitas otak bertahan 13 detik setelah dislokasi servikal.³³

Teknik *cervical dislocation* juga sangat praktis untuk dilakukan pada hewan-hewan yang telah disebutkan diatas. Dilakukan dengan cara memisahkan tengkorak dan otak dari sumsum tulang belakang. Bila sumsum tulang belakang terpisah dari otak, reflek kedip menghilang dengan segera, rangsangan rasa sakit menghilang sehingga hewan tak peka rasa sakit.³⁴

3.10 Langkah Kerja Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Forensik Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia. Terminasi dan pengamatan yang dilakukan terhadap kedua kelompok hewan coba dilakukan oleh penulis dan dibimbing oleh drh. Cindy Ayu Anastasia Yuliania Wowiling dan dr.Suryo Wijoyo, Sp.K., MH.Kes.

3.10.1 Langkah Kerja Terminasi Tikus Kelompok A (tanpa *cardial puncture*)

1. Memastikan jumlah tikus 8 ekor
2. Mempersiapkan obat bius. Dosis : 1 tikus : 0,2 ml/Ekor (Campur *ketamin* 0,1ml + *xylazine* 0,1 ml), siapkan dalam 8 spuit 1cc.

3. Mempersiapkan alas *sterofoam* dan letakkan kertas hvs dengan penomoran sampel.
4. Mempersiapkan *termometer infrared*.
5. Menghitung suhu sampel di dalam kandang (sebelum dibius).
6. Mengambil 1 tikus dan melakukan pembiusan via *intraperitoneal*.
7. Tunggu sampai efek pembiusan tampak yaitu tikus mulai kehilangan keseimbangan dan cenderung diam.
8. Setelah tikus diam, segera timbang berat badan.
9. Cukur bulu bagian perut secara meluas.
10. Letakan tikus di atas *sterofoam* yang telah dinomori dengan hvs.
11. Lanjutkan dengan tikus yang lain (kembali ke nomor 6-10).
12. Lakukan *cervical dislocation* pada seluruh tikus
13. Mengamati proses pembusukan dan melakukan penghitungan panjang larva lalat menggunakan jangka sorong
14. Menguburkan tikus dan membersihkan laboratorium setelah percobaan selesai dan semua tanda telah teramati

3.10.2 Langkah Kerja Terminasi Tikus Kelompok B (dengan *cardial puncture*)

1. Memastikan jumlah tikus 8 ekor
2. Mempersiapkan obat bius. Dosis : 1 tikus : 0,2 ml/Ekor (Campur *ketamin* 0,1ml + *xylazine* 0,1 ml), siapkan dalam 8 spuit 1cc.
3. Mempersiapkan alas *sterofoam* dan letakkan kertas hvs dengan penomoran sampel.
4. Mempersiapkan *termometer infrared*.
5. Menghitung suhu sampel di dalam kandang (sebelum dibius).
6. Mengambil 1 tikus dan melakukan pembiusan via *intraperitoneal*.
7. Tunggu sampai efek pembiusan tampak yaitu tikus mulai kehilangan keseimbangan dan cenderung diam.
8. Setelah tikus diam, segera timbang berat badan.
9. Cukur bulu bagian perut secara meluas.
10. Letakan tikus di atas *sterofoam* yang telah dinomori dengan hvs.
11. Lanjutkan dengan tikus yang lain (kembali ke nomor 6-10)

12. Setelah semua tikus dibius, lakukan *cardial puncture* dengan menggunakan spuit 5cc, dengan pengambilan darah bertahap, ambilah 0,5 ml darah setiap 1 menit, setelah 1 menit, ambil lagi 0,5 ml, ambilah darah sebanyak-banyaknya minimal 30% dari darah total (sampai spuit menunjukkan angka 3 ml). Jika dilakukan dengan benar, semua darah akan terkumpul dalam waktu 5 menit (0 menit : 0,5 ml , 1 menit : 1 ml, 2 menit : 1,5ml, 3 menit : 2ml , 4 menit : 2,5 ml, 5 menit : 3 ml)
13. Lakukan *cervical dislocation* pada seluruh tikus
14. Mengamati proses pembusukan dan melakukan penghitungan panjang larva lalat menggunakan jangka sorong
15. Menguburkan tikus dan membersihkan laboratorium setelah percobaan selesai dan semua tanda telah teramati

3.11 Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan dari penelitian akan diolah melalui tahap – tahap berikut ini :

1. Koreksi (*Editing*)

Peneliti akan mengoreksi data yang dikumpulkan dari pencatatan tabel.

2. Pengkodean (*Coding*)

Peneliti akan melakukan klarifikasi terhadap data. Kemudian, data tersebut berdasarkan dengan jenisnya akan diberikan kode sesuai dengan karakter masing–masing.

3. Penyusunan data (*tabulating*)

Data yang sudah dikode akan disusun dan dikelompokkan kembali agar lebih mudah di olah.

4. Memasukkan data (*Entering / data input*)

Data–data hasil penelitian beserta seluruh variabel akan dimasukkan untuk di proses lebih lanjut.

Instrumentasi untuk melakukan pengolahan data yang akan digunakan adalah komputer dan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) untuk windows versi 24.0 . Data yang telah di kumpulkan akan diolah serta di analisis dengan menggunakan metode Kendall’s Tau dan Pearson untuk melihat dan menentukan hubungan antar variabel. Penelitian bermakna jika ditemukan $\alpha \leq 0,05$

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah:

1. Analisis univariat

Analisis ini dilakukan untuk mendefinisikan tiap variabel yang diteliti dalam bentuk distribusi frekuensi dan presentase.

2. Analisis bivariat

Analisis ini dilakukan kepada dua variabel yang saling berhubungan / berkorelasi. Analisis bivariat ini akan menggunakan metode Kendall's Tau dan Pearson sehingga dapat diputuskan :

- a. H_a diterima (H_0 ditolak) jika $P \text{ value} \leq \alpha (0,05)$
- b. H_a ditolak (H_0 diterima) jika $P \text{ value} > \alpha (0,05)$

3.12 Etika Penelitian

Penelitian ini sudah dinyatakan lolos kaji etik oleh *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia Jakarta pada tanggal 17 Januari 2017