

PERBANDINGAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI KULIT LEHER TIKUS WISTAR YANG DIGANTUNG DENGAN PEMBEDAAN PERIODE POSTMORTEM

Muhammad Sulthon Al Haris¹, Intarniati Nur Rohmah², Ika Pawitra Miranti³

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Ilmu Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang-Semarang 50275, Telp. 024-76928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Penggantungan adalah jenis penjeratan di mana tekanan pada leher disebabkan oleh berat badan korban sendiri. Tidak semua kasus penggantungan disebabkan melalui praktik bunuh diri. Kasus penggantungan juga dapat terjadi akibat kecelakaan ataupun pembunuhan, dan dapat pula ditemui kasus penggantungan postmortem yaitu bila korban digantung dalam keadaan sudah meninggal setelah sebelumnya dibunuh. Untuk membedakan kasus-kasus tersebut diperlukan investigasi yang menyeluruh serta kecermatan dalam proses autopsi yang bertujuan untuk mencari dan mengidentifikasi adanya luka atau jejas sehingga dapat ditentukan intravitalitas dan umur luka atau jejas tersebut, baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Salah satu metode pemeriksaan mikroskopik adalah melalui analisis proses inflamasi yang menggunakan beberapa parameter seperti infiltrasi leukosit. Sejauh ini belum ada penelitian yang membahas tentang perbandingan intravitalitas berdasarkan gambaran histopatologi organ. **Tujuan :** Mengetahui perbandingan gambaran histopatologi kulit leher tikus Wistar yang digantung dengan perbedaan periode postmortem. **Metode :** Penelitian eksperimental dengan *post test-only control group design* ini menggunakan 4 kelompok yang masing-masing terdiri atas 7 ekor tikus Wistar. Kelompok K (kontrol) yaitu tikus yang digantung antemortem setelah mendapat anestesi. 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) dan P3 (perlakuan 3) digantung 2 jam dan 3 jam saat postmortem dengan cara yang sama seperti kelompok P1. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histopatologi kulit leher dan pemeriksaan gambaran mikroskopis. **Hasil :** Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K dengan P1 ($p < 0,001$), K dengan P2 ($p < 0,001$), dan K dengan P3 ($p < 0,001$), serta diperoleh perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok P1 dengan P2 ($p = 1$), P1 dengan P3 ($p = 0,576$), dan P2 dengan P3 ($p = 1$). **Simpulan :** Terdapat penurunan jumlah leukosit pada tikus Wistar yang mulai digantung 1 jam, 2 jam, dan 3 jam postmortem dengan kontrol, serta terdapat jumlah leukosit yang hampir sama pada tikus Wistar yang mulai digantung antara 1 jam, 2 jam, dengan 3 jam postmortem.

Kata Kunci : penggantungan, postmortem, infiltrasi leukosit

ABSTRACT

COMPARISON OF WISTAR RAT NECK SKIN HISTOPATHOLOGY THAT WAS HANGED WITH DISTINCTION OF POSTMORTEM PERIODS

Background : Hanging is a kind of strangulation where pressure on the neck is caused by the victim's own weight. Not all cases of hanging are caused by suicidal practices. Hanging cases

can also occur due to accidents or homicides and postmortem hanging cases can also be found. To distinguish these cases, a thorough investigation and accuracy in the autopsy process is needed to find and identify any injuries or lesions so that the intravitality and age of the wound or injury can be determined, both macroscopically and microscopically. One method of microscopic examination is through the analysis of inflammatory process that uses several parameters such as leukocyte infiltration. **Aim** : To find out the comparison of histopathological features of Wistar rats' neck skins that were hanged with the differences in the postmortem period. **Methods** : This experimental study with post-test only control group design used 4 groups, each consisting of 7 Wistar rats. Group K (control) ie rats that were hung antemortem after receiving anesthesia. Group P1 (treatment 1) was rats that were hung at postmortem 1 hour after termination using lethal dose anesthesia with a hanging duration of 1 hour. Group P2 (treatment 2) and P3 (treatment 3) were hung 2 hours and 3 hours at postmortem in the same way as group P1. Next step was making preparations for neck skin histopathology examination. **Result** : There were significant differences between group K with P1 ($p < 0.001$), K with P2 ($p < 0.001$), and K with P3 ($p < 0.001$), and there were no significant differences between group P1 with P2 ($p = 1$), P1 with P3 ($p = 0.576$), and P2 with P3 ($p = 1$). **Conclusion** : There was a decrease in the number of leukocytes in Wistar rats which began to be hung 1 hour, 2 hours, and 3 hours postmortem with control, and there were almost the same number of leukocytes in Wistar rats which began to hang between 1 hour, 2 hours, with 3 hours postmortem.

Keywords : hanging, postmortem, leukocyte infiltration

PENDAHULUAN

Penggantungan atau *hanging* adalah jenis penjeratan (*ligature strangulation*) di mana tekanan pada leher disebabkan oleh berat badan korban sendiri.¹ Praktik penggantungan pada zaman dahulu biasa ditemui dalam bentuk hukuman mati, sedangkan saat ini penggantungan diidentikkan sebagai praktik bunuh diri.² Gantung diri merupakan metode bunuh diri yang banyak ditemukan di dunia, di mana sekitar 50% kasus bunuh diri di negara-negara tersebut dilakukan dengan gantung diri.³ Hal ini diyakini karena tindakan gantung diri dapat

dilakukan di mana saja, seperti di rumah korban, dan kapan saja dengan menggunakan benda yang mudah diperoleh seperti tali, kabel listrik, sabuk, ataupun dasi.^{4,5}

Namun perlu diperhatikan bahwa tidak semua kasus penggantungan disebabkan melalui praktik bunuh diri. Kasus penggantungan juga dapat terjadi akibat kecelakaan (*accidental hanging*) ataupun pembunuhan (*homicidal hanging*), meskipun kejadiannya lebih jarang bila dibandingkan dengan gantung diri. Tercatat sekitar 5% dari kasus penggantungan diakibatkan oleh

ketidaksengajaan atau kecelakaan dan dapat terjadi pada kelompok usia anak-anak hingga dewasa.⁶ Adapun kasus pembunuhan dengan cara menggantung korbannya juga merupakan kasus yang jarang, yaitu hanya 1% bila dibandingkan dengan kasus bunuh diri.⁷ Pelaku pembunuhan haruslah lebih kuat daripada korban, sehingga umumnya korban dari kasus ini adalah orang yang dalam keadaan lemah atau tidak mampu melawan seperti anak-anak dan orang dewasa atau orang tua yang sedang tidur, sakit, atau terganggu kesadarannya.^{2,8-11} Selain itu dalam dunia forensik dikenal pula penggantungan postmortem, yaitu bila korban digantung dalam keadaan sudah meninggal setelah sebelumnya dibunuh. Baik pada kasus pembunuhan dengan penggantungan maupun penggantungan postmortem, keduanya memiliki motif yang sama yaitu untuk mengelabui penegak hukum sehingga seolah-olah korban meninggal akibat gantung diri.^{2,11}

Untuk membedakan kasus-kasus tersebut di atas diperlukan investigasi yang menyeluruh pada tempat kejadian perkara serta kecermatan dalam proses autopsi dengan melibatkan pemeriksaan laboratorium bila diperlukan.^{7,11} Kecermatan dalam proses autopsi

diperlukan untuk mencari adanya luka atau jejas, baik yang berkaitan maupun yang tidak berkaitan dengan penggantungan, dan selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut untuk mencari petunjuk apakah luka tersebut didapatkan korban ketika masih hidup (intravital atau antemortem) atau saat korban sudah meninggal (postmortem) sekaligus untuk mengetahui umur luka tersebut.¹² Luka intravital dapat dideteksi secara makroskopik ataupun hanya dapat dideteksi secara mikroskopik dengan teknik histopatologi, imunohistokimia, enzimologi, dan lain-lain. Teknik-teknik tersebut bekerja berdasarkan beberapa metode, salah satunya adalah analisis proses inflamasi.¹³

Inflamasi atau peradangan merupakan salah satu fase dari proses penyembuhan luka yang melibatkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskular disertai perekrutan sel-sel radang yang bertujuan untuk mencegah infeksi. Proses penyembuhan luka ini telah dijadikan dasar dalam upaya untuk penentuan intravitalitas dan umur suatu luka berdasarkan ekstrasvasasi darah dan infiltrasi sel-sel radang. Pelepasan beberapa mediator seperti faktor-faktor koagulasi, sitokin, dan faktor-faktor pertumbuhan juga dianggap menjanjikan

untuk membantu dokter forensik dalam mengidentifikasi suatu luka.¹⁴

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test-only control group design*. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok yang masing-masing terdiri atas 7 ekor tikus Wistar. Kelompok K (kontrol) yaitu tikus yang digantung antemortem setelah mendapat anestesi menggunakan inhalasi ether dengan dosis non-lethal. Kelompok P1 (perlakuan 1) yaitu tikus yang digantung saat postmortem 1 jam setelah diterminasi menggunakan anestesi menggunakan inhalasi ether dengan dosis letal dan durasi penggantungan selama 1 jam. Kelompok P2 (perlakuan 2) dan P3 (perlakuan 3) digantung 2 jam dan 3 jam saat postmortem dengan cara yang sama seperti kelompok P1. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histopatologi kulit leher dan pemeriksaan gambaran mikroskopis.

Kriteria inklusi dari sampel penelitian antara lain tikus Wistar jantan berusia 8-12 minggu dengan berat 150-250 gram, sedangkan kriteria ekslusinya antara lain tikus tidak aktif bergerak sebelum diberikan anestesi, memiliki kelainan

anatomi, dan terdapat jejas pada leher tikus. Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana untuk menghindari bias akibat variasi usia dan berat tikus. Variabel bebas dari penelitian ini adalah interval waktu penggantungan postmortem, sedangkan variabel terikat dari penelitian ini adalah gambaran histopatologi kulit leher tikus Wistar.

Uji hipotesis yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA Post Hoc Bonferroni* karena data terdistribusi normal dan bervarians homogen. Nilai *p* dianggap bermakna apabila $p < 0.05$.

HASIL

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2018 di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Laboratorium Sentral Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk pembuatan preparat histopatologi dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr Kariadi untuk pembacaan preparat. Penelitian ini menggunakan sampel preparat kulit leher tikus Wistar yang terdapat bekas penggantungan untuk dilakukan pembacaan patologi anatomi dengan parameter infiltrasi leukosit.

Tabel 1. Hasil pengamatan infiltrasi leukosit

Kelompok	Nomor Sampel	Lapang Pandang				
		1	2	3	4	5
K	Sampel no. 1	8	5	8	8	4
	Sampel no. 2	8	13	6	4	8
	Sampel no. 3	5	6	14	10	9
	Sampel no. 4	6	11	7	6	5
	Sampel no. 5*	-	-	-	-	-
	Sampel no. 6	6	10	5	5	6
	Sampel no. 7	6	6	3	7	10
P1	Sampel no. 1	4	3	2	4	5
	Sampel no. 2	4	5	4	3	3
	Sampel no. 3	2	4	3	4	5
	Sampel no. 4	5	4	6	5	3
	Sampel no. 5*	-	-	-	-	-
	Sampel no. 6	4	5	5	3	4
	Sampel no. 7	5	3	7	4	8
P2	Sampel no. 1	2	3	3	2	1
	Sampel no. 2	11	5	6	8	3
	Sampel no. 3	5	6	4	3	3
	Sampel no. 4	2	4	3	4	4
	Sampel no. 5*	-	-	-	-	-
	Sampel no. 6	2	4	4	2	3
	Sampel no. 7	2	3	5	1	5
P3	Sampel no. 1	4	6	1	1	5
	Sampel no. 2	1	3	3	4	3
	Sampel no. 3	2	2	1	4	1
	Sampel no. 4	2	3	4	3	1
	Sampel no. 5*	-	-	-	-	-
	Sampel no. 6	3	2	4	5	4
	Sampel no. 7	5	3	4	6	4

Keterangan: *Tidak dilakukan pembacaan histopatologi

Pengecatan menggunakan Hematoksilin Eosin (HE) dan pembacaan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapangan pandang. Leukosit yang ditemukan kemudian dihitung dan diambil rata-rata. Pembacaan hanya dilakukan pada 6 ekor sampel kulit leher tikus di setiap kelompok karena terdapat kesalahan dalam pembuatan preparat patologi anatomi pada salah satu sampel di salah satu kelompok, sehingga agar lebih obyektif maka setiap sampel dengan nomor sampel yang sama dengan nomor sampel yang bermasalah pada masing-masing kelompok diputuskan untuk tidak dilakukan pembacaan.

Tabel 2. Tabel uji statistik *One Way ANOVA* parameter infiltrasi leukosit kulit leher

Kelompok	Rerata ± Standar Deviasi	P
K	7,17 ± 0,96	< 0,001*
P1	4,20 ± 0,70	
P2	3,77 ± 1,53	
P3	3,13 ± 0,85	

Keterangan: * Signifikan ($p < 0,05$)

Pada uji normalitas dan homogenitas didapatkan bahwa data terdistribusi normal dan bervarian homogen. Pada uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai $p < 0,001$ yang

menunjukkan terdapat perbedaan jumlah infiltrasi leukosit yang bermakna pada seluruh kelompok. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*.

Tabel 3. Tabel uji statistik *Post Hoc Bonferroni* parameter infiltrasi leukosit kulit leher

Kelompok	P1	P2	P3
K	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
P1	-	1,000	0,576
P2		-	1,000

Keterangan: * Signifikan ($p < 0,05$)

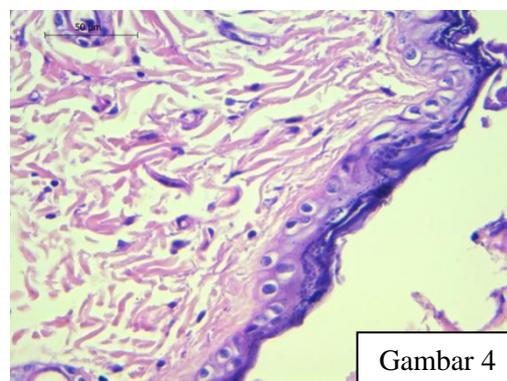
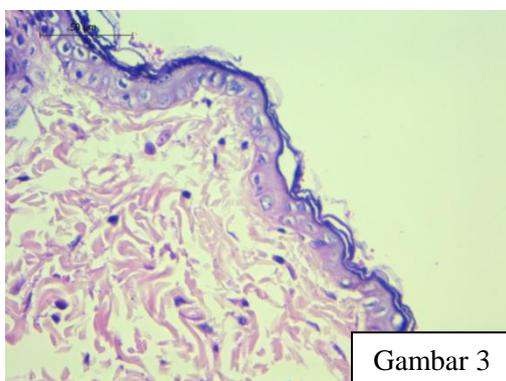
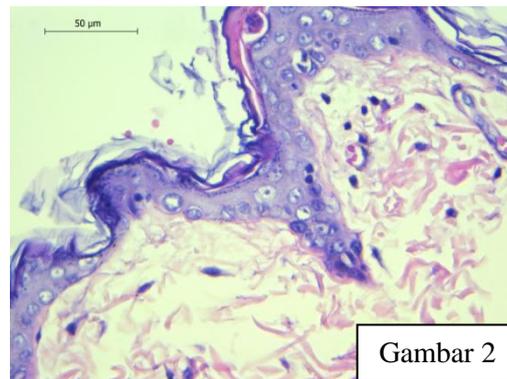
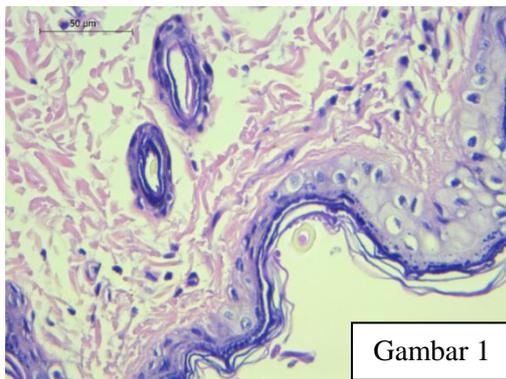
Hasil uji beda antar kelompok *Post Hoc Bonferroni* didapatkan bahwa terdapat perbedaan jumlah infiltrasi leukosit yang bermakna antara kelompok K dengan P1, K dengan P2, dan K dengan P3. Sedangkan antara kelompok P1 dengan P2, P1 dengan P3, dan P2 dengan P3 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Terdapat penurunan jumlah infiltrasi leukosit yang bermakna antara kelompok K dengan P1, P2, dan P3. Temuan ini sesuai dengan teori sebelumnya bahwa reaksi vital tidak akan ditemui pada kondisi postmortem.^{15,16}

Reaksi vital yang meliputi perdarahan, infiltrasi sel-sel radang, dan pembentukan jaringan granulasi hanya ditemui pada kondisi intravital serta menunjukkan bahwa korban masih hidup ketika mengalami trauma.¹⁶ Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Balandiz *et al* (2015).¹⁷ Pada penelitiannya yang membandingkan konsentrasi sitokin pro-inflamasi berupa IL-1 β pada tikus yang digantung saat antemortem dengan postmortem menggunakan pengecatan imunohistokimia didapatkan hasil bahwa IL-1 β terdeteksi

pada semua sampel tikus yang digantung saat antemortem dan hampir tidak terdeteksi pada sampel tikus yang digantung saat postmortem.¹⁷ IL-1 β merupakan sitokin pro-inflamasi yang diproduksi oleh sel-sel pada sistem imunitas bawaan dan berperan penting pada fase inflamasi selama proses penyembuhan luka maupun infeksi.^{18,19} Dengan demikian dapat dipahami bahwa pada kondisi postmortem terjadi penurunan proses inflamasi dan hal ini sesuai dengan hasil penelitian di atas.



Gambar 1 s.d. 4. Gambaran histopatologi kulit leher tikus Wistar pada kelompok K (Gambar 1), P1 (Gambar 2), P2 (Gambar 3), dan P3 (Gambar 4). (HE, 400 \times)

Kemudian terdapat penurunan jumlah infiltrasi leukosit pada kelompok P1, P2, dan P3 secara berurutan yang tidak bermakna secara statistik. Pada penelitian-penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa leukosit masih dapat bergerak aktif hingga beberapa jam setelah kematian somatik karena 90% proses metabolisme leukosit terjadi secara anaerob.²⁰⁻²² Pemberian perlakuan pada penelitian-penelitian tersebut dilakukan dalam waktu yang sama pada setiap kelompok perlakuan, sehingga peneliti mencoba memvariasikan waktu pemberian perlakuan yaitu pada 1 jam, 2 jam, dan 3 jam saat postmortem untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna yang dalam hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan infiltrasi leukosit. Namun pada penelitian ini didapatkan fakta yaitu masih terdapat adanya infiltrasi leukosit dengan jumlah yang tidak jauh berbeda pada masing-masing kelompok perlakuan meskipun waktu pemberian perlakuan telah divariasikan. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena interval waktu penggantungan dengan kematian somatik maupun antar kelompok perlakuan yang terlalu lama, sedangkan kematian seluler sudah mulai terjadi sehingga didapatkan

penurunan jumlah infiltrasi leukosit yang tidak bermakna secara statistik.

Keterbatasan penelitian ini adalah jumlah sampel penelitian yang terbilang sedikit, sehingga mempengaruhi kekuatan dari penelitian ini. Selain itu hal ini juga dapat berpengaruh terhadap tingkat kebermaknaan dari hasil penelitian secara statistik.

KESIMPULAN

Terdapat penurunan jumlah leukosit pada tikus Wistar yang mulai digantung 1 jam, 2 jam, dan 3 jam postmortem dengan kontrol, serta terdapat jumlah leukosit yang hampir sama pada tikus Wistar yang mulai digantung antara 1 jam, 2 jam, dengan 3 jam postmortem.

DAFTAR PUSTAKA

1. Shepherd R. Simpson's Forensic Medicine [Internet]. 12 ed. London: Arnold; 2003. Tersedia pada: <http://www.arnoldpublishers.com>
2. Lubis AK, Nasution GB, Ritonga M. Gantung diri (Hanging). *Majalah Kedokteran Nusantara*. 2012;45(2):104-8.
3. World Health Organization. Preventing suicide. 2014;92. Tersedia pada: http://www.who.int/mental_

- health/suicide/prevention/world_report_2014/en/
4. Bennewith O, Gunnell D, Kapur N, Turnbull P, Simkin S, Sutton L, et al. Suicide by hanging: Multicentre study based on coroners' records in England. *British Journal of Psychiatry*. 2005;186(MAR.):260–1.
 5. Gunnell D, Bennewith O, Hawton K, Simkin S, Kapur N. The epidemiology and prevention of suicide by hanging: A systematic review. *International Journal of Epidemiology*. 2005;34(2):433–42.
 6. Ben Dhiab M, Jdidi M, Nouma Y, Ben Mansour N, Belhadj M, K. Souguir M. Accidental hanging: A report of four cases and review of the literature. *Journal of Clinical Pathology and Forensic Medicine* [Internet]. 2014;5(1):1–5. Tersedia pada: http://academicjournals.org/journal/JC_PFM/article-abstract/32A2E7A45342
 7. Puschel K, Holtz W, Hildebrand E, Naeve W, Brinkmann B. Hanging: suicide or homicide? *Archiv fur Kriminologie*. 1984;174(5–6):141–53.
 8. Sharma L, Khanagwal VP, Paliwal PK. Homicidal hanging. *Legal Medicine* [Internet]. 2011;13(5):259–61. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.05.009>
 9. Pollak S, Thierauf-emberger A. Homicidal assault to the neck with subsequent simulation of self-hanging. *Forensic Science International* [Internet]. 2015;253:e28–32. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.05.031>
 10. Monticelli FC, Brandtner H, Kunz SN, Keller T, Neuhuber F. Homicide by hanging: A case report and its forensic-medical aspects. *Journal of Forensic and Legal Medicine* [Internet]. 2015;33:71–5. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2015.04.006>
 11. Vij K. *Textbook of Forensic Medicine & Toxicology: Principles & Practice* [Internet]. 2014. 612 hal. Tersedia pada: <https://books.google.com/books?id=Ip1rAwAAQBAJ&pgis=1>
 12. Legaz Pérez I, Falcón M, Gimenez M, Diaz FM, Pérez-Cárceles MD, Osuna E, et al. Diagnosis of Vitality in Skin Wounds in the Ligature Marks Resulting From Suicide Hanging. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 2017;38(3):211–8.
 13. Dettmeyer RB, Verhoff MA, Schütz

- HF. Forensic Medicine: Fundamentals and Perspectives [Internet]. Vol. 61 (Pt 4), The Medico-legal journal. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. 187-188 hal. Tersedia pada: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-38818-7>
14. Casse JM, Martrille L, Vignaud JM, Gauchotte G. Skin wounds vitality markers in forensic pathology: An updated review. *Medicine, Science and the Law*. 2015;56(2):128–37.
15. Oehmichen M. Vitality and time course of wounds. *Forensic Science International*. 2004;144(2–3):221–31.
16. Li N, Du Q, Bai R, Sun J. Vitality and wound-age estimation in forensic pathology: review and future prospects. *Forensic Sciences Research* [Internet]. 2018;1790:1–10. Tersedia pada: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20961790.2018.1445441>
17. Balandiz H, Pehlivan S, Çiçek AF, Tuğlu H. Evaluation of vitality in the experimental hanging model of rats by using immunohistochemical IL-1 β antibody staining. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 2015;36(4):317–22.
18. Kondo T, Ohshima T. The dynamics of inflammatory cytokines in the healing process of mouse skin wound: A preliminary study for possible wound age determination. *International Journal of Legal Medicine*. 1996;108(5):231–6.
19. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine and Growth Factor Reviews* [Internet]. 2011;22(4):189–95. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.10.001>
20. Ali TT. The Role of White Blood Cells in Post-Mortem Wounds. *Medicine, Science and the Law*. 1988;28(2):100–6.
21. Grellner W, Madea B, Kruppenbacher JP, Dimmeler S. Interleukin-1 α (IL-1 α) and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (FMLP) as potential inducers of supravital chemotaxis. *International Journal of Legal Medicine*. 1996;109(3):130–3.
22. Karnovsky L. Basis of Phagocytic Activity. *Physiological Reviews*. 1962;42(87):143–68.