

Analisis Gambaran Histopatologis pada Jaringan Kulit *Rattus norvegicus* yang Mengalami Kekerasan Tumpul Tanpa Jejas

Mohammad Tegar Indrayana^{1,2*}, Rika Susanti³, Roni Eka Syahputra⁴, Noza Hillbertina⁵, Dedi Afandi², Yanwirasti⁵, Nuzulia Irawati⁶, Arni Amir⁶

ABSTRACT

Blunt trauma without visible skin damage is a common type of violence encountered in physical assault cases. Statistically, at RS Bhayangkara Pekanbaru, 341 cases of blunt trauma without skin damage were reported out of a total of 6,255 assault cases from 2015 to 2020. These cases present a challenge for doctors in finding physical evidence of trauma to document in medicolegal reports (Visum et Repertum). This study aims to analyze the histopathological differences, including erythrocyte extravasation, neutrophil and monocyte cell infiltration, and tissue edema, between groups subjected to blunt trauma without skin damage and a control group. Using a post-test-only group design, this study involved 30 *Rattus norvegicus* samples divided into three groups: control, intervention group 1, and intervention group 2. The intervention involved a 324-gram load dropped from a height of 45 cm onto the surface of the rats' skin. Histopathological examination revealed no significant differences in erythrocyte extravasation, neutrophil infiltration, or monocyte infiltration, while a significant difference was observed in tissue edema levels.

Keywords: Blunt force injuries, erythrocyte extravasation, monocyte infiltration, neutrophil infiltration, tissue edema

Kekerasan tumpul tanpa jejas didefinisikan sebagai kekerasan yang mengenai permukaan kulit di mana pada pemeriksaan kasat mata (makroskopis) tidak ditemukan perubahan warna kulit, namun secara sistemik terdapat respons dari sitokin-sitokin proinflamasi dan gambaran histopatologis jaringan yang menunjukkan adanya reaksi inflamasi. Kekerasan tumpul tanpa jejas menjadi masalah dalam praktik forensik klinis sehari-hari karena secara makroskopis tidak ditemukan luka pada permukaan kulit yang dapat digunakan sebagai

bukti kekerasan dalam Visum et Repertum. Secara statistik, pada manusia, terdapat 341 kasus kekerasan tumpul tanpa jejas dari total 6.255 kasus penganiayaan yang diperiksa di RS Bhayangkara Pekanbaru dalam rentang waktu 2015–2020.¹

Penelitian yang ada selama ini lebih berfokus pada kekerasan yang menunjukkan jejas nyata pada permukaan kulit, yang dimanfaatkan untuk memperkirakan usia luka dan membedakan luka yang terjadi saat korban masih hidup (antemortem) atau setelah korban meninggal dunia (postmortem). Berdasarkan penelusuran penulis, hingga saat ini hanya terdapat tiga penelitian yang membahas kekerasan tumpul tanpa jejas. Penelitian tersebut masing-masing membahas berat beban yang dapat menimbulkan trauma tanpa jejas pada ekstremitas bawah manusia, berat beban yang dapat menyebabkan trauma tanpa jejas pada tungkai tikus, dan pengaruh sitokin proinflamasi interleukin-6 (IL-6) pada permukaan kulit tikus yang mengalami kekerasan tumpul tanpa jejas.²⁻⁴

* Corresponding author: tegar.indrayana@lecturer.unri.ac.id

¹ Program Doktor, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia

² KJFD Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran, Universitas Riau, Indonesia

³ Departemen Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia

⁴ Departemen Ortopedi dan Traumatologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia

⁵ Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia

⁶ Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia

Penelitian yang mengamati gambaran histopatologis memar atau kekerasan tumpul dengan jejas nyata telah banyak dilakukan. Penelitian-penelitian tersebut mengamati elemen-elemen histologis yang muncul pada kekerasan tumpul dengan jejas nyata (memar) seperti infiltrasi sel neutrofil, makrofag, limfosit, ekstrasvasi eritrosit, dan edema jaringan.^{2,5-8} Namun, gambaran histopatologis pada kekerasan tumpul tanpa jejas belum pernah diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengamati gambaran histopatologis jaringan kulit pada tikus yang mengalami kekerasan tumpul tanpa jejas dan membandingkannya dengan kelompok tikus yang tidak mengalami perlakuan tersebut.

METODE

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Unit Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, dengan nomor persetujuan B/163/UN19.5.1.1.8/UEPKK/2022. Penelitian ini mematuhi prinsip 3R (*replacement, reduction, refinement*) dan lima prinsip kesejahteraan hewan (*Animal Welfare*).^{9,10}

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only group design*. Sampel yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar berumur 8–9 minggu dengan berat >200 gram. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan dewasa galur Wistar (*Rattus norvegicus*) digunakan sebagai subjek penelitian, yang dibagi menjadi dua kelompok: 10 ekor sebagai kelompok kontrol dan 20 ekor sebagai kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan dibagi lagi menjadi dua subkelompok, di mana masing-masing subkelompok mendapatkan perlakuan, dengan pengambilan sampel dilakukan 1 jam dan 6 jam pasca perlakuan. Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi dan dihabituisasi selama 7 hari dalam kondisi suhu 25°C dengan siklus terang-gelap 12 jam dan akses makan dan minum tanpa batas. Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Riau dan Sentra Diagnostik Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dari Januari 2023 hingga Desember 2023.

Perlakuan dan Pengambilan Sampel

Sebelum perlakuan, tikus diberi anestesi berupa inhalasi uap eter. Perlakuan trauma tumpul diberikan dengan menjatuhkan beban logam seberat 324 gram melalui pipa PVC sepanjang 135 cm dengan diameter 2,5 cm dari ketinggian 45 cm ke arah musculus biceps femoris untuk menimbulkan kekerasan tumpul tanpa jejas.² Setelah tindakan perlakuan, tikus dibiarkan siuman selama 1 hingga 6 jam. Tikus kemudian dieuthanasia, dan dilakukan insisi pada jaringan kulit di sekitar musculus biceps femoris dengan ukuran sampel 1 cm x 1 cm.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Setelah pengambilan sampel, preparat histopatologi dibuat melalui beberapa langkah. Pertama, sampel jaringan difiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% selama 3 jam. Setelah itu, sampel dipotong dan dimasukkan ke dalam embedding cassette, kemudian dilakukan dehidrasi dengan merendam jaringan dalam alkohol bertingkat (70%, 90%, dan 100%). Setelah dehidrasi, dilakukan clearing dengan xylol untuk menghilangkan sisa alkohol, diikuti oleh impregnasi dalam parafin cair pada suhu 55–57°C selama 3 jam. Setelah proses impregnasi, pembuatan blok parafin dilakukan dengan memotong sediaan secara hati-hati, memastikan orientasi jaringan dengan benar di ruang dingin. Sampel kemudian diwarnai menggunakan metode pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE).

Pemeriksaan Mikroskopis

Sampel yang telah diwarnai diperiksa di bawah mikroskop cahaya BX51 dengan kamera Olympus DP20 pada pembesaran 400 kali. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati gambaran histopatologi, termasuk ekstrasvasi eritrosit, infiltrasi sel neutrofil dan monosit, serta edema jaringan. Setiap variabel diinterpretasikan dengan skoring; skor 0 menunjukkan keadaan normal, sementara skor 1, 2, dan 3 menggambarkan peningkatan ringan, sedang, dan signifikan. Untuk edema jaringan, skor 0 menunjukkan keadaan normal, dan skor 1, 2, dan 3 menunjukkan edema ringan, sedang, dan berat.¹¹

Analisis Data

Uji statistik dalam penelitian ini dilakukan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov karena data yang diperoleh tidak memenuhi syarat untuk uji Chi-Square pada tabel berukuran 2 x K dengan bantuan perangkat lunak SPSS. Uji Kolmogorov-Smirnov digunakan untuk menentukan signifikansi hasil penelitian. Hipotesis dianggap bermakna apabila nilai p-value < 0,05.

HASIL

Pada penelitian ini analisis histopatologi (Gambar 1) jaringan kulit tikus akibat kekerasan tumpul tanpa jejas dinilai berdasarkan empat aspek reaksi inflamasi, yaitu ekstrasvasi eritrosit, infiltrasi sel neutrofil, infiltrasi sel monosit, dan tingkat edema jaringan.

Ekstrasvasi eritrosit

Berdasarkan gambaran histopatologis, seluruh kelompok kontrol berada pada kategori ekstrasvasi eritrosit normal. Pada kelompok perlakuan, terdapat 2 ekor tikus (10%) yang menunjukkan peningkatan ekstrasvasi pada kategori sedang. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (p = 1.000), seperti yang disajikan dalam Tabel 1.

Infiltrasi sel neutrofil

Data hasil gambaran histopatologis infiltrasi sel leukosit neutrofil menunjukkan bahwa seluruh kelompok kontrol berada pada kategori normal. Pada kelompok perlakuan, terdapat 1 ekor tikus (5%) yang menunjukkan peningkatan infiltrasi neutrofil pada kategori sedang. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (p = 1.000). Hasil analisis Kolmogorov-Smirnov ini disajikan dalam Tabel 1.

Infiltrasi sel monosit

Hasil pemeriksaan histopatologis menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, 5 ekor tikus (50%)

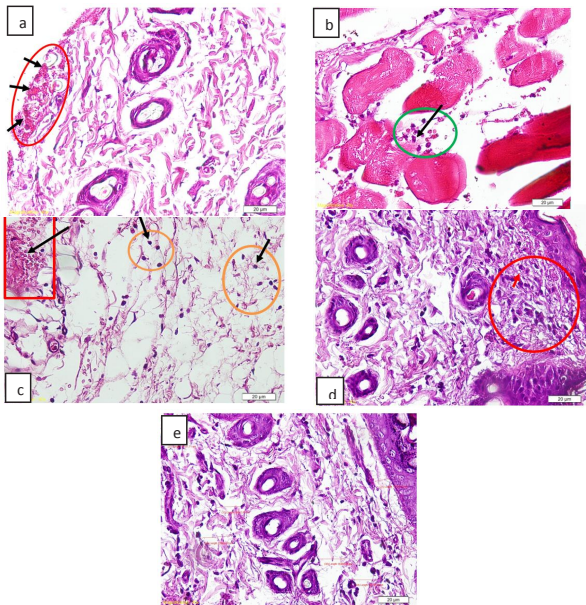
tidak memiliki infiltrasi sel monosit (normal), dan 5 ekor tikus (50%) menunjukkan peningkatan infiltrasi monosit pada kategori ringan. Pada kelompok perlakuan, 3 ekor tikus (15%) tidak menunjukkan infiltrasi sel monosit (normal), 13 ekor tikus (65%) berada pada kategori peningkatan ringan, dan 4 ekor tikus (20%) berada pada kategori peningkatan sedang. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (p = 0.388), seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Level edema jaringan

Pada gambaran histopatologi mengenai level edema jaringan, seluruh kelompok kontrol tidak menunjukkan adanya edema jaringan. Pada kelompok perlakuan, 7 ekor tikus (25%) tidak ditemukan edema jaringan (normal), dan 13 ekor tikus (65%) berada pada kategori peningkatan ringan. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (p = 0.007), seperti yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Histopatologis *musculus biceps femoris* tikus *Rattus norvegicus* Pasca Pemberian Perlakuan.

Gambaran Histopatologis		Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan	p-value
Level Ekstrasvasi Eritrosit	Normal	10 (100)	18 (90)	1,000
	Peningkatan Ringan	-	-	
	Peningkatan Sedang	-	2 (10)	
	Peningkatan Signifikan	-	-	
Infiltrasi Sel Neutrofil	Normal	10 (100)	19 (95)	1,000
	Peningkatan Ringan	-	-	
	Peningkatan Sedang	-	1 (5)	
	Peningkatan Signifikan	-	-	
Infiltrasi Sel Monosit	Normal	5 (50)	3 (15)	0,388
	Peningkatan Ringan	5 (50)	13 (65)	
	Peningkatan Sedang	-	4 (20)	
	Peningkatan Signifikan	-	-	
Level Edema Jaringan	Normal	10 (100)	7 (25)	0,007
	Peningkatan Ringan	-	13 (65)	
	Peningkatan Sedang	-	-	
	Peningkatan Signifikan	-	-	



Gambar 1. Gambaran Histopatologis musculus biceps femoris tikus *Rattus norvegicus* Pasca Pemberian Perlakuan. Keterangan: (a) Akumulasi eritrosit pada permukaan kulit tikus; (b) Infiltrasi sel leukosit Polimorfonuklear di antara muskular; (c) Infiltrasi ringan sel Mononuklear pada area subkutis dan Ekstravasasi Eritrosit pada jaringan subkutis; (d) Infiltrasi sel Mononuklear pada jaringan ikat sub epidermis; (e) Edema dengan mengukur jarak Unstained area dengan mikroskop BX51 Kamera Olympus DP20. Pulasan Hematoksilin - eosin (Perbesaran 400x).

DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada parameter tingkat edema, sementara pada tiga parameter lainnya, yaitu ekstravasasi eritrosit, infiltrasi sel neutrofil, dan infiltrasi sel monosit, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kedua kelompok. Berdasarkan teori, ketika seseorang mengalami trauma yang menyebabkan luka pada kulit, akan terjadi proses inflamasi sebagai mekanisme hemostasis tubuh. Trauma menyebabkan ruptur pembuluh darah, yang mengakibatkan ekstravasasi eritrosit ke jaringan ekstravaskular dan aktivasi respon imun seluler. Sel-sel imun ini kemudian melakukan infiltrasi ke daerah yang mengalami trauma, sehingga terjadi

respon inflamasi akut. Aktivitas respon inflamasi akut terjadi pada tiga hari pertama pascatrauma dan melibatkan ekstravasasi cairan dari intravaskuler ke jaringan, menyebabkan pembengkakan atau edema. Selanjutnya, terjadi migrasi komponen seluler darah, yaitu neutrofil dan monosit, dari pembuluh darah ke lokasi trauma.^{12,13}

Dari keempat gambaran histopatologis pascatrauma yang dianalisis dalam penelitian ini, hanya edema jaringan yang menunjukkan perbedaan bermakna. Hasil ini berbeda dengan penelitian Dantas, yang menunjukkan bahwa penjatuhan beban pada musculus gastrocnemius tikus dengan berat 324 gram dari ketinggian 45 cm, dinilai 72 jam pascaperlakuan, memberikan gambaran histopatologis berupa infiltrasi sel inflamasi yang tidak seragam. Hasil penelitian Dantas bersifat deskriptif dan tidak melakukan analisis statistik untuk membandingkan kelompok kontrol dan perlakuan.²

Penelitian Al-Saheh yang melibatkan 39 tikus menunjukkan hasil yang berbeda dari penelitian ini. Dalam penelitian tersebut, ditemukan ekstravasasi eritrosit, edema, dan peningkatan sel inflamasi pada menit ke-60, yang semakin meningkat pada seluruh lapisan kulit pada menit ke-360.¹⁴ Perbedaan jenis perlakuan trauma antara penelitian Al-Saheh dan penelitian ini dapat menjadi alasan perbedaan hasil yang diperoleh.

Penelitian Khalaf memiliki kemiripan dengan penelitian ini, di mana gambaran edema tanpa disertai infiltrasi sel neutrofil ditemukan pada tikus yang diberikan trauma berupa biopsi steril. Pada penelitian tersebut, terlihat peningkatan edema jaringan ringan dan tidak terdapat peningkatan infiltrasi sel neutrofil pada kurang dari 24 jam pascaintervensi.¹⁵ Namun, penelitian tersebut tidak memberikan penjelasan terkait ketiadaan sel neutrofil. Hasil serupa juga ditemukan dalam penelitian El-Zahed, di mana pada kelompok perlakuan dengan luka tusuk yang diperiksa kurang dari 30 menit pascatrauma dan 31-60 menit pascatrauma, tidak ditemukan perubahan histopatologis yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.¹⁶ Hal ini menunjukkan bahwa, meskipun trauma yang diberikan lebih eksensif, tidak selalu ditemukan gambaran ekstravasasi eritrosit dan infiltrasi sel neutrofil.

Fenomena menarik dalam penelitian ini adalah ditemukannya infiltrasi sel monosit pada kelompok kontrol. Berdasarkan teori, keberadaan sel monosit biasanya menunjukkan adanya proses inflamasi dan trauma. Penulis menduga bahwa sel monosit yang ditemukan pada kelompok kontrol ini mungkin merupakan sel makrofag jaringan (tissue macrophages).¹⁷ Keberadaan sel-sel makrofag tersebut masih perlu dikaji lebih lanjut untuk menentukan apakah mereka merupakan makrofag aktif atau tidak, yang dapat dilakukan melalui pemeriksaan imunohistokimia.¹⁸

Penelitian-penelitian sebelumnya tidak memberikan penjelasan yang jelas terkait ketiadaan ekstrasvasi eritrosit dan infiltrasi sel neutrofil. Dalam konteks penelitian ini, alasan ketiadaan ekstrasvasi eritrosit dan infiltrasi sel neutrofil dapat disebabkan oleh beban yang diberikan pada permukaan kulit belum cukup signifikan untuk menyebabkan ruptur pembuluh darah. Meskipun penelitian ini menggunakan metode yang serupa dengan Dantas, yaitu menjatuhkan beban 324 gram dari ketinggian 45 cm, hasil histopatologis menunjukkan perbedaan. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh lokasi perlakuan yang berbeda secara anatomi; penelitian ini menggunakan regio musculus biceps femoris, yang lebih luas dibandingkan dengan regio gastrocnemius yang digunakan oleh Dantas.² Luasnya permukaan objek dapat mempengaruhi tekanan yang dihasilkan oleh gaya beban, sesuai dengan rumus tekanan ($P = F/A$). Akibatnya, pada penelitian ini tidak ditemukan ekstrasvasi eritrosit dan sel inflamasi karena kerusakan pada permukaan objek tidak sebesar yang terjadi pada penelitian Dantas.

Selanjutnya diperlukan penelitian lebih lanjut dengan memberikan beban yang lebih berat atau mengubah ketinggian penjatuhan beban untuk menyebabkan ruptur pembuluh darah yang mengakibatkan ekstrasvasi eritrosit ke jaringan interstisial tanpa menimbulkan manifestasi jejas pada permukaan kulit. Langkah ini diharapkan dapat memperlihatkan keberadaan ekstrasvasi eritrosit, infiltrasi sel neutrofil, dan monosit sebagai bentuk respon inflamasi jaringan terhadap trauma, yang belum tampak pada penelitian ini.

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa kekerasan tumpul tanpa jejas tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan secara statistik pada gambaran histopatologis ekstrasvasi eritrosit, infiltrasi sel neutrofil, dan infiltrasi sel monosit antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Namun, terdapat perbedaan yang signifikan pada gambaran histopatologis tingkat edema jaringan. Disarankan untuk melakukan penelitian serupa dengan memberikan beban yang lebih berat guna menyebabkan ruptur pembuluh darah yang dapat menimbulkan ekstrasvasi eritrosit ke jaringan interstisial tanpa manifestasi jejas pada permukaan kulit. Penelitian tersebut juga dapat mengamati lebih lanjut aktivitas sel neutrofil dan monosit dalam respon inflamasi pasca trauma.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan pada penulisan dan publikasi penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas semua pihak yang terlibat dalam membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Delfina D. Profil korban penganiayaan tanpa manifestasi jejas pada permukaan tubuh yang diperiksa di rumah sakit Bhayangkara Pekanbaru periode 2015-2020 [Skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Kedokteran, Universitas Riau; 2021. 52 p.
2. Dantas MGB, Damasceno CMD, Barros VRP, et al. Creation of a contusion injury method for skeletal muscle in rats with differing impacts. *Acta Cir Bras.* 2017;32(5):369–73.
3. Desmoulin GT, Anderson GS. Method to investigate contusion mechanics in living humans. *J Forensic Biomech.* 2011;2:1–10.
4. Indrayana MT, Susanti R, Syahputra RE, Hilbertina N, Afandi D, Yanwirasti, Irawati

- N, et al. Comparison of ELISA between pro-inflammatory cytokine (IL-1 β , IL-6 and TNF- α) levels induced by blunt trauma without damage to the skin in *Rattus norvegicus*. *Azerbaijan Med J*. 2024;64(1):1143-49.
5. Barington K, Jensen HE. Experimental animal models of bruises in forensic medicine - a review. *Scand J Lab Anim Sci*. 2015;41(14):1-8.
 6. Kostadinova-Petrova I, Mitevaska E, Janeska B. Histological characteristics of bruises with different age. *Open Access Maced J Med Sci*. 2017;5(7):813-7.
 7. Parai JL, Milroy CM. Histological aging of bruising: a historical and ongoing challenge. *Acad Forensic Pathol*. 2015;5(2):266-72.
 8. Langlois NEI. The science behind the quest to determine the age of bruises: a review of the English language literature. *Forensic Sci Med Pathol*. 2007;3(4):241-51.
 9. Widyastuti R, et al. Pemanfaatan mencit sebagai hewan coba laboratorium. Jakarta: Erlangga; 2022.
 10. Wuri R, Rosdianto AM, Goenawan H. *Kajian Pustaka: Pemanfaatan tikus sebagai hewan model trauma tumpul (Kontusio)*. *Indones Med Vet*. 2021;10(2):338-54.
 11. Gillette RL, Swaim SF, Sartin EA, Bradley DM, Coolman SL. Effects of a bioactive glass on healing of closed skin wounds in dogs. *Am J Vet Res*. 2001;62:1149-53.
 12. Riches P. The biomechanics of bruising [thesis]. [Glasgow]: University of Glasgow; 2013. 14 p.
 13. Akrom, Hidayati T. Trauma dan reaksi inflamasi. In: *Imunofarmakologi Radang*. Jakarta: Penerbit Widya Medika; 2021. p. 12-4.
 14. Al-Saheh MA, Al-Jameel WH. Histopathological changes as tools to discriminate antemortem and post-mortem wounds in rats: prospective applications in forensic medicine. *Iraqi J Vet Sci*. 2022;37(1):197-204.
 15. Khalaf AA, Hassanen EI, Zaki AR, Tohamy AF, Ibrahim MA. Histopathological, immunohistochemical, and molecular studies for determination of wound age and vitality in rats. *Int Wound J*. 2019;16(6):1416-25.
 16. El-Zahed ES, Othman AMA, Ahmed SM, El-Din EAA. Role of interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in determination of skin wound age in human cadavers: Histopathological and immunohistochemical study. *Zagazig J Forensic Med*. 2020.
 17. Sadikin M. *Biokimia Darah*. Edisi I. Jakarta: Penerbit Widya Medika; 2002. 127 p.
 18. Barros MHM, Hauck F, Dreyer JH, Kempkes B, Niedobitek G. Macrophage Polarisation: an Immunohistochemical Approach for Identifying M1 and M2 Macrophages. *PLoS One*. 2013;8(11)