



PENGARUH STRESOR RASA SAKIT TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN DALAM DARAH

PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS *WISTAR* JANTAN

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember



Disal:	Hadiah	Klass
	Pemberian	619
Penyaji:		RAN
Induk:		P
Pembimbing:	Pengkatalog: <i>fas</i>	

Drg. Erna Sulistyani, M. Kes (DPU)
Drg. Izzata Barid, M. Kes (DPA)

Oleh :

IKA PUJI RANTINI

NIM. 001610101108

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PENGARUH STRESOR RASA SAKIT TERHADAP
JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN DALAM DARAH
PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS *WISTAR* JANTAN**

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**


**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Meraih Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**


Oleh :

**Ika Puji Rantini
NIM. 001610101108**

DOSEN PEMBIMBING UTAMA

DOSEN PEMBIMBING ANGGOTA


**drg. Erna Sulistyani, M.Kes
NIP. 132 148 478**


**drg. Izzata Barid, M.Kes
NIP. 132 162 520**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005



Diterima oleh :

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Sebagai Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI)

Dipertahankan pada :
Hari : Rabu
Tanggal : 26 Januari 2005
Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi

Tim Penguji

Ketua ,

drg. Erna Sulistyani, M.Kes
NIP. 132 148 478

Sekretaris ,

drg. Sri Erliani, Sp. KG
NIP. 132 206 023

Anggota ,

drg. Izzata Barid, M.Kes
NIP. 132 162 520

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember



drg. Zahren Hamzah, M.S
NIP. 131 558 576

Motto

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai dari sesuatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain, dan hanya kepada Tuhan-mulah hendaknya kamu berharap (QS. Al-Insyirah : 6-8)”.

“Barangsiapa yang bertawakkal kepada Allah niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar dan memberinya rizqi dari arah yang tidak disangka-sangka (QS. Ath-Thalaq : 2)”.

“Tidak semua yang kita hadapi dapat diubah, tapi tak ada suatu pun yang bisa diubah sebelum kita menghadapinya (James Baldwin)”.

“Dengan tetap mematuhi hal-hal yang tidak ditakdirkan untuk kulakukan, aku kini mengerti bahwa kekuatanku adalah hasil kelemahanku, kesuksesanku adalah akibat kegagalanku, dan gayaku langsung berkaitan dengan keterbatasanku (Billi Joel)”.

“Belajar, berdo’a, berusaha dan tidak putus asa adalah kunci menuju kesuksesan (me...)”.

PERSEMBAHANKU

Karya tulis ini kupersembahkan untuk :

1. Bapakku **Tumiran** dan Ibuku **Murtini**, lentera semangatku, terima kasih atas rangkaian do'a yang tulus, kasih sayang yang tak terhingga, bimbingan disetiap langkahku dan semua pengorbanan yang tiada pernah dapat kubalas.
2. Adikku **Erlia Puji Yanitasari**, terima kasih atas do'a, semangat, canda tawa dan keceriaanmu yang selama ini mengisi hari-hariku.
3. Mas **Heri Sudrajad**, yang selalu setia mendengar keluh kesahku, terima kasih atas do'a, semangat, cinta dan kasih sayangmu. Semoga kita selalu tersenyum menapaki masa depan.
4. Almamaterku yang kubanggakan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat ALLAH SWT atas segala berkat karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI) yang berjudul **Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin Dalam Darah. Penelitian Eksperimental Pada Tikus *Wistar Jantan***.

Karya tulis ini tersusun berkat bantuan dari beberapa pihak, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Drg. Zahreni Hamzah, M.S**, selaku Dekan Fakultas KedokteranGigi Universitas Jember.
2. **Drg. Erna Sulistyani, M.Kes**, selaku Dosen Pembimbing Utama dan **Drg. Izzata Barid, M.Kes**, selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah sabar membimbing dan memberi petunjuk dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. **Drg. Sri Erliani, Sp.KG** selaku sekretaris yang telah memberikan masukan dan bimbingan guna kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. **Semua staf pengajar dan karyawan** di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, atas semua dukungan dan bimbingan selama ini.
5. **Mbak Nur'aini, Mas Agus dan Mas Erwin** yang telah memberikan tempat dan bantuan tenaga serta pikiran selama kami penelitian.
6. **Dr. H.A Wahyu Widodo, M.Kes, Mbak Endang, Mbak Santi** dan semua **karyawan** Laboratorium Kesehatan Daerah Dinas Kesehatan Kabupaten Jember yang telah membantu selama penelitian.
7. **Bapak, ibu, nenek, kakek, keluarga besar di Madiun dan Maospati**, terima kasih atas nasihat, do'a dan dukungan yang diberikan kepadaku.
8. **Mas Rusmanto, Mbak Nunung, "si kecil" Lala dan kelaarga besar Asrama Yonif 509**, yang telah menerimaku sejak pertama aku menginjakkan kaki di Jember, memberiku tempat berteduh dan bernaung ditempat yang sejuk dan damai.

9. **Mbak Iis, Enti, Hayu, Ajeng, Maria**, teman seperjuangan di penelitian, terimakasih atas kerjasama dan kekompakannya.
10. **Dewi Amaliyah, Leila, Iras**, “*Our friendship is never die...*”
11. **Semua rekan-rekan senasib seperjuangan angkatan 2000**, “tetap semangat dan kompak”.
12. **Teman-teman Kost “Puri Asri” Sumatera 134**, yang telah memberi warna dalam hari-hariku.
13. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini hingga selesai.

Penulis sadar masih banyak ketidaksempurnaan dan kekurangan dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Untuk itu adanya kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya.

Akhirnya penulis berharap agar Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat yang berguna bagi kita semua. Amin.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
RINGKASAN.....	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Stres.....	4
2.1.1 Definisi Stres.....	4
2.1.2 Stresor Renjatan Listrik.....	5
2.1.3 Perubahan Akibat Stresor Renjatan Listrik.....	6
2.1.4 Jalur Renjatan Listrik.....	7
2.2 Eritrosit.....	8
2.2.1 Gambaran Umum Eritrosit.....	8
2.2.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Jumlah Eritrosit.....	10

2.3 Hemoglobin.....	11
2.3.1 Gambaran Umum Hemoglobin.....	11
2.3.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kadar Hemoglobin.....	12
2.4 Hubungan Stresor Renjatan Listrik dengan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin.....	13
2.4.1 Hubungan Stresor dan Kortisol.....	13
2.4.2 Hubungan Kortisol dengan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin.....	14
2.5 Hipotesa	14

III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Tempat, dan Waktu penelitian	16
3.1.1 Jenis Penelitian	16
3.1.2 Tempat penelitian	16
3.1.3 Waktu Penelitian.....	16
3.2 Variabel Penelitian.....	16
3.2.1 Variabel Bebas.....	16
3.2.2 Variabel Terikat.....	16
3.2.3 Variabel Terkendali	16
3.3 Definisi Operasional Penelitian	17
3.3.1 Stresor Renjatan Listrik	17
3.3.2 Jumlah Eritrosit.....	17
3.3.3 Kadar Hemoglobin.....	17
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	17
3.4.1 Populasi.....	17
3.4.2 Sampel	17
3.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	18
3.5.1 Alat Penelitian.....	18
3.5.2 Bahan Penelitian	19

3.6	Prosedur Penelitian	19
3.6.1	Tahap Persiapan.....	19
3.6.2	Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba	19
3.6.3	Penghitungan Jumlah Eritrosit.....	20
3.6.4	Penentuan Kadar Hemoglobin.....	20
3.7	Alur Penelitian	21
3.8	Analisa Data.....	21
IV. HASIL DAN ANALISA DATA		
4.1	Hasil Penelitian.....	22
4.2	Analisa Data.....	24
V. PEMBAHASAN.....		27
VI. KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1	Kesimpulan.....	32
6.2	Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....		33
LAMPIRAN.....		37

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jumlah Eritrosit Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan....	22
Tabel 2. Kadar Hemoglobin Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	23
Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Jumlah Eritrosit Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	25
Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas Jumlah Eritrosit Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	25
Tabel 5. Hasil Uji <i>Independent t-test</i> Untuk Membandingkan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penghitungan Besar Sampel	37
Lampiran 2. Daftar Komposisi Makanan Standar Tikus.....	38
Lampiran 3. Penghitungan Eritrosit	39
Lampiran 4. Penentuan Kadar Hemoglobin.....	41
Lampiran 5. Cara Menghitung Eritrosit Didalam Kamar Hitung	42
Lampiran 6. Kamar Hitung <i>Improved Neubaur</i>	43
Lampiran 7. Analisa Data Jumlah Eritrosit.....	44
Lampiran 8. Analisa Data Kadar Hemoglobin.....	45
Lampiran 9. Foto Alat dan Bahan Penelitian	46
Lampiran10. Hasil Penghitungan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Kelompok Kontrol.....	51
Lampiran11. Hasil Penghitungan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Kelompok Perlakuan.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambar Normoblas	10
Gambar 2. Gambar Eritrosit	11
Gambar 3. Grafik Jumlah Eritrosit Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	23
Gambar 4. Grafik Kadar Hemoglobin Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	24
Gambar 5. Gambar Cara Menghitung Eritrosit Didalam Kamar Hitung	42
Gambar 6. Pembagian Kamar Hitung	43



RINGKASAN

“Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin dalam Darah“. Penelitian Eksperimental Pada Tikus *Wistar* Jantan oleh Ika Puji Rantini, NIM : 001610101108, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembimbing : drg. Erna Sulistyani, M.Kes (DPU), drg. Izzata Barid, M.Kes (DPA).

Stresor merupakan rangsangan yang dapat menimbulkan stres. Stresor tidak hanya bersifat fisik tetapi juga psikis. Suatu kejadian dianggap sebagai stresor sangat bergantung pada sifat kejadian, asal, pertahanan dan mekanisme penerimaan dari individu. Stresor berupa renjatan listrik dengan “*electrical foot shock*” dapat menimbulkan stres pada individu dengan menyebabkan peningkatan kadar kortisol dalam darah sehingga berpengaruh pada proses hemopoiesis.

Penelitian tentang pengaruh stresor rasa sakit berupa renjatan listrik atau “*electrical foot shock*” terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah pada tikus putih *wistar* jantan telah dilakukan di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Kesehatan Daerah Dinas Kesehatan Kabupaten Jember pada bulan Oktober-November 2004. Obyek penelitian berupa 16 ekor tikus putih *wistar* jantan yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol hanya diberi makanan standar dan diadaptasikan dalam kandang, sedangkan kelompok perlakuan diberi makanan standar dan diberi stresor rasa sakit *electrical foot shock*. Pada hari ke tujuh semua tikus dikorbankan dan diambil darah intrakardial untuk dihitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darahnya.

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji parametrik *independent t-test* untuk mengetahui perbedaan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil data menunjukkan $p > 0,05$ yang berarti bahwa stresor rasa sakit berupa renjatan listrik tidak berpengaruh terhadap perubahan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah pada tikus *wistar* jantan. Dengan kata lain, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Hasil penelitian tidak sesuai dengan hipotesa karena dipengaruhi oleh dua keadaan yang saling bertolakbelakang. Di satu sisi peningkatan kortisol akibat stresor dapat mempercepat eritropoiesis melalui peningkatan hormon eritropoietin, sedang disisi lain peningkatan kortisol dapat memperlambat eritropoiesis dengan cara penurunan proses hemopoiesis, sehingga jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah tidak mengalami perubahan atau tetap.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hidup manusia selalu dinamis, selalu mengadakan perubahan dan tidak pernah lepas dari permasalahan. Berbagai permasalahan dapat menimbulkan stres. Stres dapat menyebabkan perasaan tidak puas, gangguan emosional dan psikosomatis (Putra, 1993). Beberapa tanda dari stres seperti pengeluaran hormon-hormon, keterlibatan organ limpa, pembesaran adrenal, perasaan lelah dan sebagainya, dapat mempengaruhi metabolisme dalam tubuh. Salah satu tanda stres yang sangat berpengaruh adalah disekresikannya hormon kortisol. Kortisol ini dapat meningkatkan produksi sel-sel darah merah (eritrosit) yang secara langsung maupun tidak langsung juga mempengaruhi kadar hemoglobin dalam eritrosit (Priandini, 1997). Sampai saat ini pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin belum diketahui secara pasti.

Banyak fakta menunjukkan bahwa individu yang mengalami stres, cemas, depresi akan mudah terserang berbagai penyakit. Hasil studi yang didasarkan pada skala perubahan kehidupan menunjukkan adanya hubungan antara sejumlah peristiwa stres dalam kehidupan seseorang dengan kesehatan fisik dan emosional orang tersebut. Beberapa peneliti berpendapat bahwa sekitar 75%, tidak ada penyakit yang sama sekali bebas dari stres (Priandini, 1999). Lebih dari 50% dalam satu tahun orang-orang menunjukkan masalah kesehatan akibat stres dan 79% orang-orang jatuh sakit di tahun berikutnya. Orang-orang dengan stres yang tinggi, tingkat kematian mereka adalah 40% lebih tinggi dibanding dengan tingkat yang diharapkan pada usia mereka. Sekitar 11% penduduk Amerika mengalami gangguan eritrosit dan hemoglobin. Kelainan eritrosit dan hemoglobin merupakan masalah yang serius karena sebagai pemicu timbulnya berbagai penyakit diantaranya adalah anemia, talasemia, polisitemia, bahkan kanker dan gangguan jantung. Melihat tingginya tingkat keseriusan masalah ini, maka perlu untuk segera diselesaikan (Atkinson, 1999).

Stres timbul karena ada rangsangan yang disebut sebagai stresor. Stresor ini tidak hanya bersifat fisik tetapi juga psikis. Suatu kejadian dianggap sebagai stresor sangat bergantung pada sifat kejadian, asal, pertahanan dan mekanisme penerimaan dari individu. Priandini (1999) menyatakan adanya hubungan antara stres dengan banyak aspek biokemikal dan perubahan struktur yang sejak dahulu tidak diketahui asal-usulnya. Terutama penelitian tentang jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin akibat pengaruh stresor rasa sakit masih sulit dilakukan, dikarenakan stresnya sendiri masih bersifat subyektif sehingga sulit untuk diukur (Priandini, 1999).

Dari latar belakang tersebut, maka peneliti akan melakukan serangkaian percobaan untuk mengetahui peranan stresor rasa sakit dalam mempengaruhi jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin, dengan harapan diperoleh pemahaman yang lebih baik tentang hubungan stres dengan sistem pertahanan tubuh. Penelitian ini memakai tikus putih wistar galur murni sebagai hewan percobaan karena tikus termasuk hewan golongan omnivora yang memiliki alat pencernaan yang serupa dengan manusia dan kebutuhan nutrisinya juga hampir sama dengan manusia. Tikus memiliki beberapa keuntungan antara lain : siklus hidupnya relative panjang, pemeliharaannya cukup mudah dan dapat mewakili mamalia, termasuk manusia. Tikus juga sebagai fasilitas untuk eksperimen secara klinik dan epidemiologi yang dimaksudkan untuk memberikan informasi yang dapat diaplikasikan secara langsung pada manusia (Baker, 1980). Tikus ini diberi stresor rasa sakit berupa renjatan listrik yang disebut "*electrical foot shock*", karena intensitas dapat terukur dengan tepat, penjalaran arus listrik dari tapak kaki ke seluruh tubuh termasuk otak dan pemulihan setelah renjatan listrik tidak ada efek ikutan. Banyak penelitian telah dilakukan dengan renjatan listrik sebagai stresor untuk menimbulkan stres dan memberi dampak pada target spesifik telah terbukti dan menunjukkan akurasi yang tepat (Asnar, 2001). Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris karena diharapkan baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Steel dan James, 1991).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasar uraian diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah ada perubahan jumlah eritrosit dalam darah setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.
2. Apakah ada perubahan kadar hemoglobin dalam darah setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk :

1. Mengetahui perubahan jumlah eritrosit dalam darah setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.
2. Mengetahui perubahan kadar hemoglobin dalam darah setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin .
2. Dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam pengelolaan pasien dengan keadaan stres.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi Stres

Pertama kali yang mengkonsepkan stres merupakan respons adalah Walter Cannon yang terkenal dengan teori *fight and flight*. Sedangkan Eric Lindermann dan Gerald Caplan yang pertama kali memperkenalkan istilah stres untuk menggambarkan suasana psikologis (Putra, 2002). Selye (1946) dalam Lubis (2000) memperkenalkan istilah stres untuk menggambarkan istilah biologis. Perkembangan lanjut, stres sebagai respons psikologis dan respons biologis terhadap stresor dinyatakan oleh Fawzy (1995) dalam Putra (2002). Penelitian Selye (1946) dalam Lubis (2000) menerangkan konsep stres melalui sindroma adaptasi secara umum. Umumnya tubuh mencoba mempertahankan sendiri dari agent yang berbahaya yang disebut *general adaptasi syndrome* (GAS). Sindroma ini dibagi atas tiga tahap yaitu : *alarm stage*, *adaptation stage* dan *exhaustion stage*.

Pada tahap *alarm stage*, tubuh melawan stres dengan cara mengerahkan kemampuan untuk merespons stresor yang diterimanya. Tahap ini merupakan reaksi segera (*immediate*) termasuk disini divisi *sympathetic* dari ANS yang mengaktifkan sistem tubuh dengan kekuatan maksimal dan siap untuk respons *fight and flight*. Adrenalin dilepaskan, *heart rate* dan tekanan darah meningkat, pernafasan menjadi cepat, darah dialihkan kembali dari organ internal ke otot skeletal, kelenjar keringat dan aktifitas gastrointestinalis menurun (Lubis, 2000).

Pada tahap *adaptation stage*, yang disebut juga tahap perlawanan (*resistance*), organ tubuh mulai beradaptasi dengan stres. Lama tahap ini tergantung pada keparahan stresor dan kapasitas adaptasi dari tubuh. Jika tubuh dapat beradaptasi, tahap perlawanan dapat berlangsung lama. Selama tahap ini penampilan seseorang dari luar terlihat normal saja, tetapi fungsi tubuh bagian dalam tidak normal. Bila stres berlangsung terus maka terjadi perubahan yang tetap pada syaraf dan hormonal. Keadaan ini disebut *disease adaptation*, dimana

penyakit dan stres masih terus berlangsung dan akhirnya memasuki tahap *exhaustion stage* (Lubis, 2000).

Pada tahap *exhaustion stage* ini kemampuan tubuh untuk menahan dan menghindari stres akan mengalami kegagalan sehingga menyebabkan berbagai penyakit antara lain peptik ulser dan *ulserative colitis*, hipertension dan *cardiovascular disease*, hipertiroidisme, *bronchial asthma*, perubahan sistem imun dan selanjutnya memudahkan terjadinya infeksi (Lubis, 2000).

Menurut Cox (1995) dalam Putra (2002), pemahaman terhadap istilah stres sangat rumit dan diperlukan tiga pendekatan, yaitu pendekatan *engineering*, psikologis dan medikofisiologis. Menurut pendekatan *engineering*, istilah stres digunakan untuk menamakan kondisi lingkungan yang merusak, yang menyebabkan individu yang hidup di lingkungan tersebut sakit, dengan demikian stres merupakan variabel bebas yang menyebabkan individu sakit.

Menurut pendekatan psikologis, istilah stres untuk menamakan interaksi dinamis antara individu dengan stresor. Pada pendekatan ini stres digunakan untuk menamakan kondisi psikologis yang terancam sebagai akibat keterbatasan kemampuan untuk memenuhi tuntutan. Stres yang merusak disebut sebagai *distress*, sedang stres yang mencapai homeostasis baru yang lebih baik disebut *eustress*. Menurut pendekatan psikologis, kualitas stres tergantung pada kemampuan individu untuk mengelola stres (*coping*). Kemampuan ini sangat tergantung pada tingkat pendidikan dan teknik relaksasi individu (Cox, 1995). Menurut pendekatan medikofisiologis, istilah stres digunakan untuk menamakan respons biologis terhadap sumber stres atau stresor (Fawzy, 1995).

2.1.2 Stresor Renjatan Listrik

Stresor renjatan listrik adalah suatu nyeri pada saraf sensorik yang diakibatkan aliran listrik yang mengalir secara tiba-tiba melalui tubuh. Bahaya stres listrik sangat besar, tubuh akan mengalami *ventricular fibrillation*, kemudian diikuti dengan kematian (Gabriel, 1996). Stresor renjatan listrik dapat dirambatkan sampai ke target spesifik melalui tiga cara yaitu (1) humoral, (2) neural dan (3) interselular dan cairan tubuh (Guyton, 1996).

Renjatan listrik akan menimbulkan stres pada individu (Kort Basso; Kaplan, 1996). Stresor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respons imun yaitu melalui aksis otak-pituitari-adrenal. Individu yang mendapat stresor menahun akan mengalami penurunan fungsi respons imun, sehingga mengakibatkan individu tersebut lebih mudah terinfeksi atau timbul kerusakan akibat reaksi imunopatologi. Penelitian Sumintarti (1997) menyatakan bahwa pemberian stres listrik dengan "*electric foot shock*" menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah, antara lain granulosit, limfosit T, limfosit B, komplemen IL-2, IL-4, IFN- γ dan TNF- α (Putra, 1999).

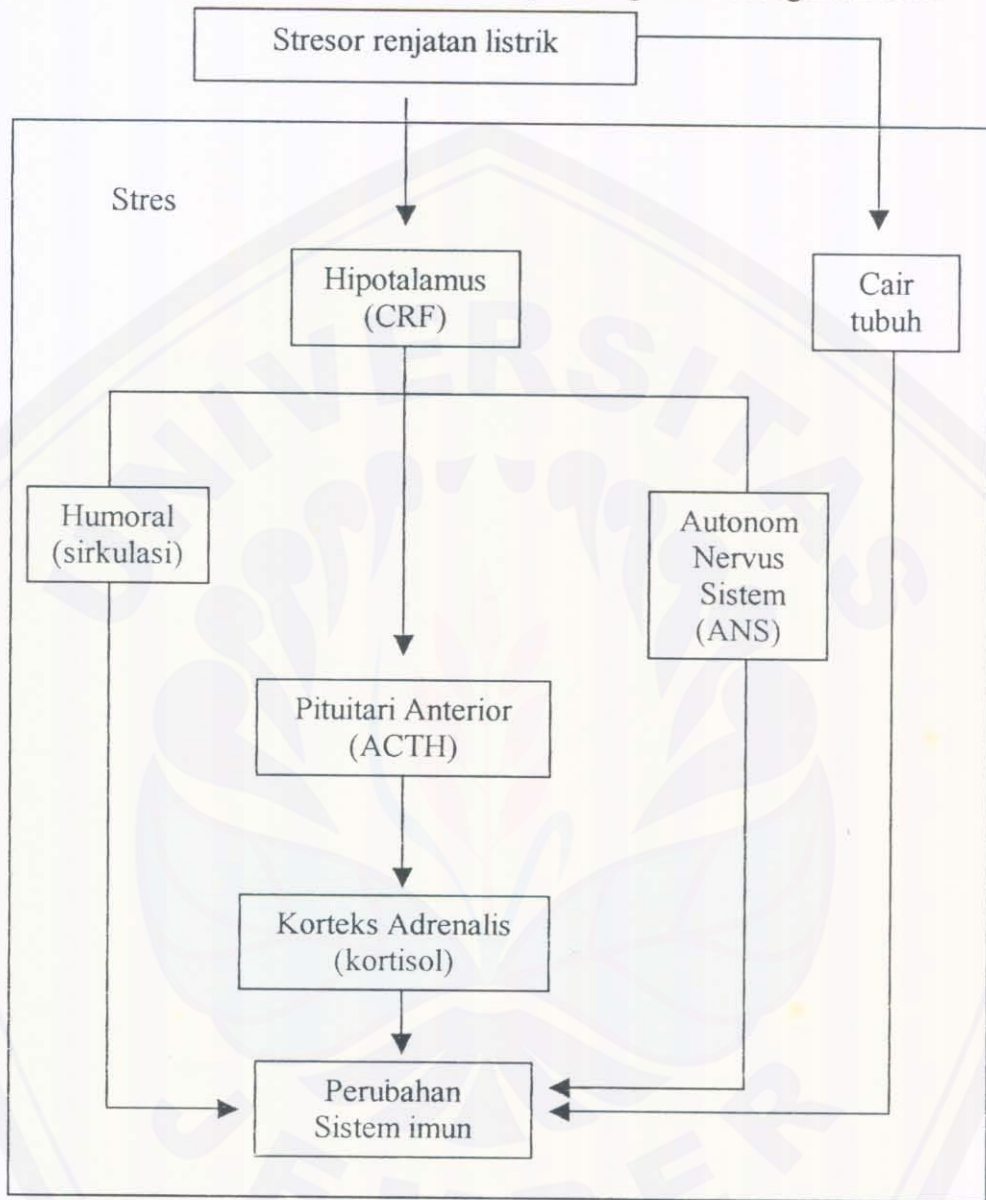
2.1.3 Perubahan Akibat Stresor Renjatan Listrik

Pada saat tubuh terpapar stresor, termasuk stresor renjatan listrik, maka tubuh akan mengalami perubahan pada beberapa sistem metabolismenya. Salah satu perubahan yang terjadi adalah terganggunya mekanisme sistem imun. Gangguan respons imun yang merupakan cerminan ketahanan tubuh akan memudahkan tubuh terserang berbagai penyakit dan mengalami kesulitan beradaptasi dengan lingkungan. Ketahanan tubuh diperlukan untuk melakukan adaptasi terhadap situasi dan kondisi lingkungan hidup, yang merupakan beban. Beban yang dihadapi ketahanan tubuh dapat berupa beban fisik maupun psikis. Bila beban tersebut melebihi kemampuan adaptasi tubuh maka beban tersebut dapat merupakan stres. Kajian tentang ketahanan tubuh pada tingkat seluler akan mudah diamati pada perubahan yang terjadi saat tubuh terserang jejas. Upaya tubuh saat menghalau jejas diwujudkan sebagai bentuk peradangan, yaitu inflamasi dan penyembuhan (Putra, 2002).

Mekanisme stres terhadap sistem imun merupakan hal yang sangat kompleks sehingga masih dibutuhkan banyak penelitian yang intensif (Liben, 1999). Respons imun merupakan suatu sistem yang terjadi supaya tubuh dapat mempertimbangkan keseimbangan antara lingkungan luar dan lingkungan dalam (Barata Widjaja dalam Moduto, 2003).

2.1.4 Jalur Renjatan Listrik

Secara umum jalur renjatan listrik dapat dibagankan sebagai berikut :



Bagan diatas menunjukkan stresor renjatan listrik dapat mempengaruhi fungsi sistem imun selain melalui aksis HPA, juga melalui jalur humoral, cairan tubuh dan sistem saraf autonom (ANS) (Asnar, 2001).

2.2 Eritrosit

2.2.1 Gambaran Umum Eritrosit

Eritrosit atau sel darah merah merupakan sel darah yang berfungsi mengangkut hemoglobin, dan seterusnya akan mengangkut oksigen yang berasal dari paru-paru ke jaringan. Untuk beberapa jenis binatang rendah, hemoglobin ini beredar sebagai bentuk protein bebas di dalam plasma, tidak secara terus-menerus terdapat di dalam sel darah merah. Tetapi jika hemoglobin ini sampai terlepas bebas di dalam plasma manusia, yakni kurang lebih 3% akan bocor melalui membran kapiler masuk ke dalam ruang jaringan atau melalaui membran glomerulus pada ginjal terus masuk ke dalam Simpai Bowman ketika setiap kali darah tersebut melewati kapiler-kapiler. Jadi agar hemoglobin tetap ada didalam aliran darah, ia harus berada didalam sel-sel darah (Guyton, 1997).

Eritrosit normal berbentuk cakram bikonkaf dengan diameter 6-8 μm . Pada sediaan hapusan darah eritrosit menunjukkan warna kemerah-merahan karena mengandung hemoglobin. Bagian tepi sel berwarna gelap karena bagian ini mengandung lebih banyak hemoglobin daripada bagian tengah yang lebih tipis. Sel yang normal berwarna merah muda yang berangsur-angsur menjadi lebih pucat pada bagian tengah. Pada sediaan hapusan darah normal semua sel menunjukkan volume, bentuk dan warna yang sama (Widmann, 1995).

Bentuk sel darah merah sebenarnya dapat berubah-ubah ketika sel beredar melewati kapiler-kapiler. Jadi sesungguhnya sel darah merah itu dapat dianggap sebagai kantong yang berubah bentuk menjadi berbagai jenis bentuk. Selanjutnya, karena sel yang normal itu mempunyai membran sel yang sangat kuat untuk menampung banyak bahan material di dalamnya, maka perubahan bentuk tadi tidak akan meregangkan membran tersebut (Guyton, 1997).

Minggu pertama kehidupan embrio, di dalam yolk sac (kantong kuning telur), akan diproduksi sel-sel darah merah primitif yang berinti. Selama trimester pertengahan dari masa gestasi, hati dianggap sebagai organ utama yang dapat memproduksi sel-sel darah merah, dan pada saat yang sama akan diproduksi sejumlah sel-sel darah merah yang jumlahnya sesuai oleh limpa dan limfonodus.

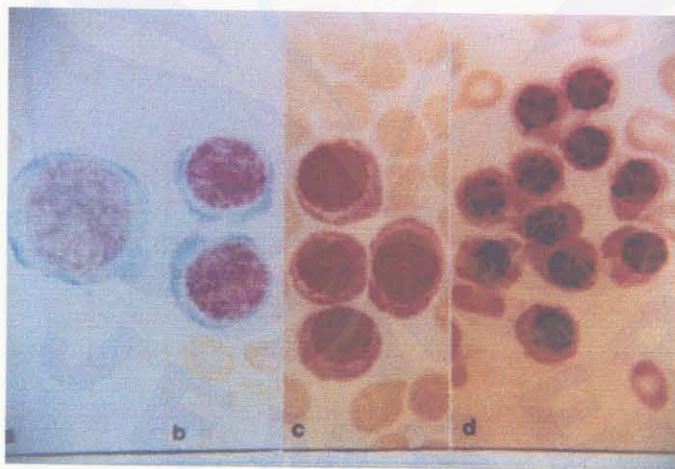
Selanjutnya periode selama akhir masa kehamilan dan sesudah lahir, sel-sel darah merah itu hanya diproduksi oleh sumsum tulang (Guyton, 1997).

Pada dasarnya sumsum tulang dari semua jenis tulang dapat memproduksi eritrosit sampai seseorang berusia lima tahun, tapi pada sumsum tulang panjang, kecuali pada bagian proksimal humerus dan tibia, dimana akan menjadi berlemak, maka tidak akan memproduksi eritrosit lagi setelah kurang lebih berusia 20 tahun. Setelah usia ini kebanyakan eritrosit akan diproduksi di dalam sumsum tulang dari membranosa, misalnya vertebra, sternum, iga dan ilium. Bahkan di dalam tulang-tulang tersebut, sumsum tulang menjadi kurang produktif sesuai dengan bertambahnya usia. Adakalanya sumsum tulang dapat dirangsang oleh berbagai jenis faktor sehingga dapat memproduksi eritrosit yang banyak sekali, demikian pula pada kebanyakan sumsum tulang yang tadinya berhenti memproduksi eritrosit kini dapat memproduksi eritrosit kembali. Sumsum tulang yang masih tetap memproduksi eritrosit akan menjadi hiperplastik dengan memproduksi eritrosit yang jumlahnya lebih banyak lagi (Guyton, 1997).

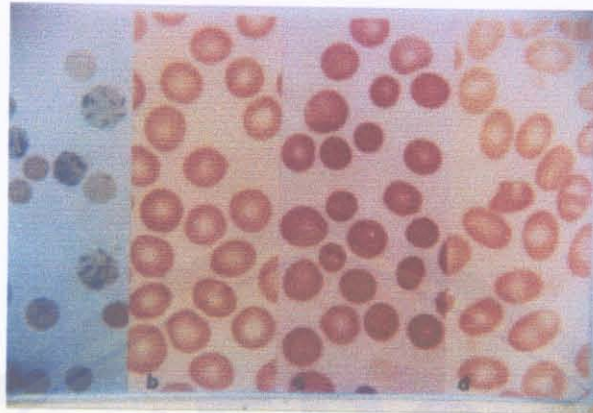
Di dalam sumsum tulang terdapat banyak *sel pluripoten hemopoietik stem* yang dapat membentuk berbagai jenis sel darah. Sel-sel ini akan terus-menerus direproduksi selama hidup manusia, walaupun jumlahnya semakin berkurang sesuai bertambahnya usia. Sel pertama yang akan dapat diketahui yang termasuk ke dalam rangkaian sel-sel darah merah dapat disebut sebagai *proeritroblas*, dengan rangsangan yang sesuai maka dari sel-sel stem ini dapat dibentuk banyak sekali sel-sel (Guyton, 1997).

Pada saat proeritroblas terbentuk satu kali, maka akan membelah beberapa kali sampai akhirnya akan terbentuk 8-16 sel-sel darah merah yang matur. Sel-sel baru dari generasi pertama ini disebut sebagai *basofil eritroblas* sebab dapat dicat dengan zat warna basa, dan sel ini pada saat ini akan mengumpulkan sedikit sekali hemoglobin. Tetapi pada generasi berikutnya yang disebut sebagai *polikromatofil eritroblas* akan mulai terbentuk cukup hemoglobin sehingga sel-sel ini mempunyai gambaran polikromatofil. Sesudah terjadi pembelahan lainnya atau selebihnya, maka akan terbentuk lebih banyak lagi hemoglobin dan sel-sel ini kemudian disebut sebagai *ortokromatik eritroblas* dimana warnanya sekarang

menjadi merah oleh karena adanya hemoglobin. Akhirnya bila sitoplasma dari sel-sel ini sudah dipenuhi oleh hemoglobin sehingga mencapai konsentrasi lebih kurang 34 persen, maka nukleus akan memadat sampai ukurannya menjadi kecil dan terdorong dari sel. Pada saat yang sama retikulum endoplasma akan mereabsorpsi, dimana pada tahap ini sel tersebut disebut sebagai retikulosit oleh karena masih mengandung sedikit bahan-bahan basofilik yang mengandung sisa-sisa golgi, mitokondria dan sedikit organela sitoplasmik yang lain. Pada tahap retikulosit ini, sel-sel tersebut akan berjalan masuk ke dalam darah kapiler dengan cara diapedesis (terperas melalui pori-pori membran). Bahan-bahan basofilik yang tersisa di dalam retikulosit tadi dalam keadaan normalnya akan menghilang dalam waktu satu sampai dua hari dan sel ini lalu disebut eritrosit matur. Oleh karena waktu hidup eritrosit ini pendek, maka pada umumnya konsentrasi seluruh sel-sel darah merah dalam darah itu pada keadaan normal jumlahnya kurang dari satu persen (Guyton, 1997).



Gambar 1. Normoblas; a.Pronormoblas, b.Normoblas basofil, c.Normoblas polikrom, d.Normoblas ertokrom.



Gambar 2. Eritrosit; a.Retikulosit, b.Eritrosit normal, c.Sferosit, d.Ofalosit

2.2.2 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Jumlah Eritrosit

Jumlah eritrosit pada darah tepi dalam sirkulasi dipengaruhi oleh berbagai faktor. Jumlah eritrosit mengalami peningkatan pada polisitemia. Terdapat dua bentuk polisitemia, yaitu polisitemia relatif dan absolut (Price, 1994).

Polisitemia relatif timbul jika volume plasma yang beredar dalam pembuluh darah berkurang (hemokonsentrasi) tetapi volume total eritrosit dalam sirkulasi normal. Bentuk lain dari polisitemia relatif adalah pseudopolisitemia atau polisitemia akibat stres. Polisitemia absolut menyatakan keadaan dimana massa eritrosit yang bersirkulasi benar-benar meningkat. Hal ini dapat terjadi secara primer, seperti pada polisitemia vera, atau sekunder sebagai akibat dari masalah medis yang sudah ada sebelumnya, seperti penyakit kardiopulmonar yang mengurangi saturasi oksigen arteri, sehingga merangsang eritropoiesis atau tumor ginjal untuk meningkatkan pembentukan eritropoietin. Keadaan seperti ini juga terjadi pada individu yang bertempat tinggal di dataran tinggi, dimana oksigen atmosferiknya menurun (Price, 1994).

Jumlah eritrosit mengalami penurunan pada keadaan defisiensi zat haematinik (misalnya besi, vitamin B₁₂, folat), penyakit sumsum tulang (misalnya hipoplasia, infiltrasi), kurang eritropoietin (misalnya penyakit ginjal), hipoksia jaringan, eritropoiesis tidak efektif (misalnya talasemia mayor, anemia megaloblastik) dan penyakit radang kronis atau keganasan (Cormack, 1994).

Jumlah eritrosit juga mengalami penurunan pada anemia. Pada umumnya ada dua kategori yang perlu dibedakan, yaitu keadaan dimana produksi eritrosit

tidak cukup dan keadaan dimana destruksi eritrosit terjadi secara berlebihan. Klasifikasi anemia tersebut antara lain anemia aplastik, anemia defisiensi besi, anemia karena penyakit menahun, anemia gagal ginjal, anemia keracunan logam berat, talasemia minor dan talasemia mayor (Price, 1994).

2.3 Hemoglobin

2.3.1 Gambaran Umum

Hemoglobin adalah molekul globuler yang dibentuk dari empat sub unit. Tiap-tiap sub unit mengandung hem yang bergabung dengan polipeptida. Hem adalah suatu derivat porfirin yang mengandung zat besi (Ganong, 1983).

Hemoglobin merupakan suatu komponen utama pada eritrosit yang membawa oksigen dari kedua paru untuk semua jaringan seluruh tubuh dan membawa kembali karbondioksida serta bahan buangan dari seluruh jaringan ke paru. Hemoglobin merupakan protein dengan kombinasi antara heme dan globin, dan mengandung zat besi esensial. Hemoglobin terdiri dari globin dengan empat grup heme yang terikat padanya (Soewondo, 2001).

Hemoglobin pada eritrosit vertebrata melakukan dua fungsi pengangkutan yaitu pengangkutan oksigen dari organ respirasi ke jaringan perifer dan pengangkutan karbondioksida dan berbagai protein dari jaringan perifer ke organ respirasi untuk selanjutnya diekskresikan keluar (Murray, 1990).

Sintesis hemoglobin dimulai di dalam eritroblas kemudian dilanjutkan di dalam stadium retikulosit. Jika retikulosit meninggalkan sumsum tulang dan masuk ke dalam aliran darah, retikulosit tetap melanjutkan diri membentuk hemoglobin. Pada penyelidikan yang menggunakan isotop telah diketahui bahwa bagian hem dari molekul hemoglobin itu disintesis terutama dari asam asetat dan glisin yang terjadi di dalam mitokondria. Selanjutnya asam asetat dan glisin akan bergabung dengan dua molekul glisin yang lain untuk membawa satu senyawa pirol. Dan sebaliknya, empat senyawa ini akan saling berikatan untuk membentuk senyawa protoporfirin. Salah satu protoporfirin tersebut dikenal sebagai protoporfirin IX yang selanjutnya akan berikatan dengan besi untuk membentuk molekul hem. Kemudian empat molekul hem itu akan berikatan dengan ikatan

polipeptid yang panjang dan disintesis oleh ribosom, membentuk suatu sub unit dari hemoglobin yang disebut sebagai rantai hemoglobin. Tiap-tiap rantai ini mempunyai berat molekul sekitar 16.000 dan empat dari molekul ini selanjutnya akan bergabung satu sama lainnya untuk membentuk molekul hemoglobin yang lengkap (Guyton, 1997).

2.3.2 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin mengalami penurunan pada eritropoiesis yang tidak efektif yang mengakibatkan penurunan eritrosit. Penurunan eritrosit ini pada umumnya diikuti oleh penurunan kadar hemoglobin karena hemoglobin merupakan komponen utama dari eritrosit (Guyton, 1997).

Penurunan kadar hemoglobin juga dapat disebabkan karena kelainan struktur hemoglobin seperti hemoglobin S, hemoglobin C, hemoglobinopati dan penyakit talasemia (Cormack, 1994).

Kadar hemoglobin menurun pada keadaan fisiologis dengan pemberian obat-obatan kloramfenikol. Kloramfenikol bekerja dengan melakukan penekanan pada sumsum tulang disertai kelainan morfologi seperti vakuolisasi dan hambatan pembentukan hem (Widmann, 1995).

Kadar hemoglobin mengalami peningkatan pada polisitemia, dimana pada polisitemia ini terjadi peningkatan jumlah eritrosit yang diikuti peningkatan kadar hemoglobin (Guyton, 1997).

2.4 Hubungan Stresor Renjatan Listrik dengan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin

2.4.1 Hubungan Stresor dan Kortisol

Bila hewan atau manusia terserang berbagai rangsangan yang mengganggu atau potensial mengganggu, maka terjadi peningkatan sekresi ACTH dan akibatnya peningkatan kadar glukokortikoid dalam darah. Peningkatan ini penting untuk kelangsungan hidup. Penyebab perlunya peningkatan kadar glukokortikoid dalam darah untuk menahan stres sebagian besar tidak diketahui. Sebagian besar rangsang stres yang meningkatkan sekresi ACTH juga mengaktifkan sistem saraf

simpatis, dan sebagian fungsi glukokortikoid dalam darah adalah untuk mempertahankan reaktifitas vascular terhadap katekolamin (Ganong, 1998).

Teori lain berpendapat bahwa glukokortikoid mencegah perubahan-perubahan yang diinduksi oleh stres agar tidak terlalu berlebihan. Saat ini, yang dapat dikatakan adalah bahwa stres menyebabkan peningkatan kadar glukokortikoid plasma ke kadar “farmakologik” yang tinggi yang dalam jangka pendek bersifat menyelamatkan nyawa, tetapi dalam jangka panjang membahayakan dan mengganggu (Ganong, 1998).

Keadaan stres selalu ditandai dengan meningkatnya sekresi suatu molekul sinyal *corticotrophin releasing factor* (CRF), suatu senyawa yang sekaligus berfungsi sebagai neurotransmitter dan sebagai hormon (neurohormon). Hantaran sinyal oleh stresor mengaktifasi sistem saraf simpatik dan menghasilkan gejala seperti peningkatan tekanan darah, pernafasan dan detak jantung. Selain itu hantaran sinyal dapat pula terjadi melalui apa yang disebut poros hipotalamus-hipofisis-adrenal (*hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA axis*). CRF akan memasuki peredaran hipotalamus-hipofisis (suatu sistem pembuluh darah vena yang menghubungkan hipotalamus dan hipofisis). Melalui peredaran darah, CRF akan mencapai hipofisis dan pengikatan CRF pada reseptor sel ini akan memicu sintesis protein *pro-opiomelanocortin* (POMC). Pengolahan pasca translasi POMC akan menghasilkan sejumlah polipeptida antara lain *Adrenocorticotropic stimulating hormon* (ACTH). ACTH melalui peredaran darah akan mencapai kelenjar adrenal dan memicu sekresi hormon kortikosteroid oleh sel kortek adrenal. Efek kortikosteroid terhadap sistem imun sebagai immunosupresan telah lama dipaparkan oleh para ahli dan dijadikan dasar dalam penggunaannya sebagai terapi (Sulistiyani, 2003).

2.4.2 Hubungan kortisol dengan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin

Di satu sisi kortisol darah dapat mempercepat eritropoiesis, sedang disisi lain peningkatan kortisol karena stres dapat memperlambat eritropoiesis sehingga jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin darah menurun. Mekanisme peningkatan eritropoiesis dilakukan kortisol dengan perangsangan sekresi eritropoietin,

sedangkan penurunan eritropoiesis dilakukan dengan mengadakan penekanan pada sumsum tulang (Price, 1994).

Sekresi kortisol yang berlebihan akibat stres menyebabkan penurunan pembentukan tulang dan peningkatan resorpsi tulang. Penurunan pembentukan tulang dilakukan dengan menghambat replikasi sel dan sintesis protein di dalam tulang. Keadaan inilah yang menyebabkan sumsum tulang kekurangan nutrisi untuk pembentukan eritrosit (eritropoiesis), sehingga eritrosit dan hemoglobin menurun (Price, 1994).

2.5 Hipotesa

1. Ada peningkatan jumlah eritrosit dalam darah setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.
2. Ada peningkatan kadar hemoglobin dalam darah setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratoris. Dipilih jenis ini karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember.

3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober –November 2004.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah : Stresor berupa *electrical foot shock*.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah : Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin darah.

3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Makanan standar tikus wistar (lampiran 2)
- b. Minuman tikus wistar
- c. Cara pemeliharaan
- d. Prosedur penelitian

3.3 Definisi Operasional Penelitian

3.3.1 Stresor Renjatan Listrik

Stresor dengan renjatan listrik berupa alat "*electric foot shock*". Perlakuan stresor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempeng yang terbuat dari tembaga di dasar kandang perlakuan. Kandang perlakuan terbuat dari bak plastik, bagian atas bertutup kaca mika, pada alas kandang dipasang lempeng yang terbuat dari tembaga untuk mengalirkan arus listrik. Kandang perlakuan berukuran 41 x 32 x 11 cm. Arus listrik tegangan rendah pada kuat arus 25 V, dengan frekuensi 60 Hz (Asnar, 2001).

3.3.2 Jumlah Eritrosit

Jumlah eritrosit adalah jumlah total eritrosit dalam darah yang tampak pada kamar hitung Improved Neubaur dengan pengenceran menggunakan larutan Hayem (Wintrobe, 1981).

3.3.3 Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin adalah kadar hemoglobin dalam darah yang diukur dengan metode Sahli (Wintrobe, 1981).

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar galur murni dengan jenis kelamin jantan.

3.4.2 Sampel

a. Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *Simple Random Sampling*.

b. Kriteria Sampel

1. Tikus *wistar* berjenis kelamin jantan
2. Berat 200-250 gram
3. Berusia 3-4 bulan
4. Tikus dalam keadaan sehat.

c. Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n = \left(\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma\rho^2}{\delta^2} \right)$$

keterangan :

n : besar sampel minimal

Z α : Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)

Z β : Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)

$\sigma\rho^2$: diasumsikan $\sigma\rho^2$ ($2\delta^2$)

α : tingkat signifikan (0,05)

β : 0,20

(Steel dan Torrie, 1995)

Berdasarkan perhitungan rumus besar sampel di atas, maka besar sampel minimal adalah 8.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

- a. Kandang yang terbuat dari ember plastik persegi empat berukuran 41 x 32 x 11 cm dengan tutup dari anyaman kasa,
- b. *Disposable Syringe* (Terumo, Japan),
- c. Timbangan untuk menimbang tikus (neraca Ohaus, Germany),
- d. Mikroskop binokuler (Leica, USA),
- e. Gunting bedah,
- f. Sarung tangan dan masker,
- g. Kamar hitung (*Improved Neubaur*),
- h. Tabung hemometer,
- i. Pipet Pasteur,
- j. Pipet kapiler Sahli dengan volume 20 cmm,
- k. Pipet volumetrik milimeter dan mikrometer,
- l. Tabung ukuran 75 x 10 mm,

3.5.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus *wistar* 16 ekor,
- b. Makanan standar untuk tikus wistar yang beredar di pasaran yaitu jenis konsentrat produksi Feedmill Malindo, Gresik dengan susunan seperti pada lampiran 2,
- c. Larutan buffer fosfat (Merck, *Germany*),
- d. Larutan Hayem, yang terdiri dari HgCl_2 0,25 ml, NaCl 0,50 ml, Na_2SO_4 2,5 ml, aquades 100 ml,
- e. EDTA.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

- a. Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di Laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember selama 1 minggu,
- b. Tikus diberi makanan standar dan air minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya),
- c. Tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak.

3.6.2 Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba

Hewan coba tikus dengan berat 200-250 gram dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok I adalah kelompok kontrol, sedangkan kelompok II adalah kelompok perlakuan, dimana pada kedua kelompok diberi stresor renjatan listrik dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng dari tembaga di dasar kandang perlakuan. Dosis pemberian renjatan listrik berpedoman pada penelitian Sumintarti (1997) dalam Asnar (2001) :

Hari ke 1 : 4 renjatan - 2 sesi

Hari ke 2 : 8 renjatan - 2 sesi

Hari ke 3 : 10 renjatan - 3 sesi

Hari ke 4 : 12 renjatan - 3 sesi

Hari ke 5 : 14 renjatan - 4 sesi

Hari ke 6 : 16 renjatan - 4 sesi

Hari ke 7 : 18 renjatan - 5 sesi

Lama 1 kali renjatan = 1 kejut, diberikan interval 4 menit untuk tiap sesi. Hari pertama diberikan 4 renjatan – 2 sesi, hari kedua diberikan 8 renjatan – 2 sesi bukannya 6 renjatan – 2 sesi, karena peningkatan sebanyak 2 renjatan x 2 sesi untuk hari kedua dianggap terlalu kecil. Hari ke 3 dan seterusnya, peningkatan cukup besar dimaksudkan agar stresor tidak dapat atau tidak mudah diadaptasi oleh tikus.

Perlakuan selanjutnya, setelah hari ke 7, hewan coba dibunuh dan dilakukan pengambilan darah intrakardial min 30 – 60 menit setelah perlakuan, karena pada umumnya kadar kortisol darah mencapai puncak 30 – 60 menit setelah mendapat stresor (Guyton, 1996).

3.6.3 Penghitungan Jumlah Eritrosit

a. Teknik persiapan penghitungan

Teknik persiapan penghitungan diuraikan pada lampiran 3.

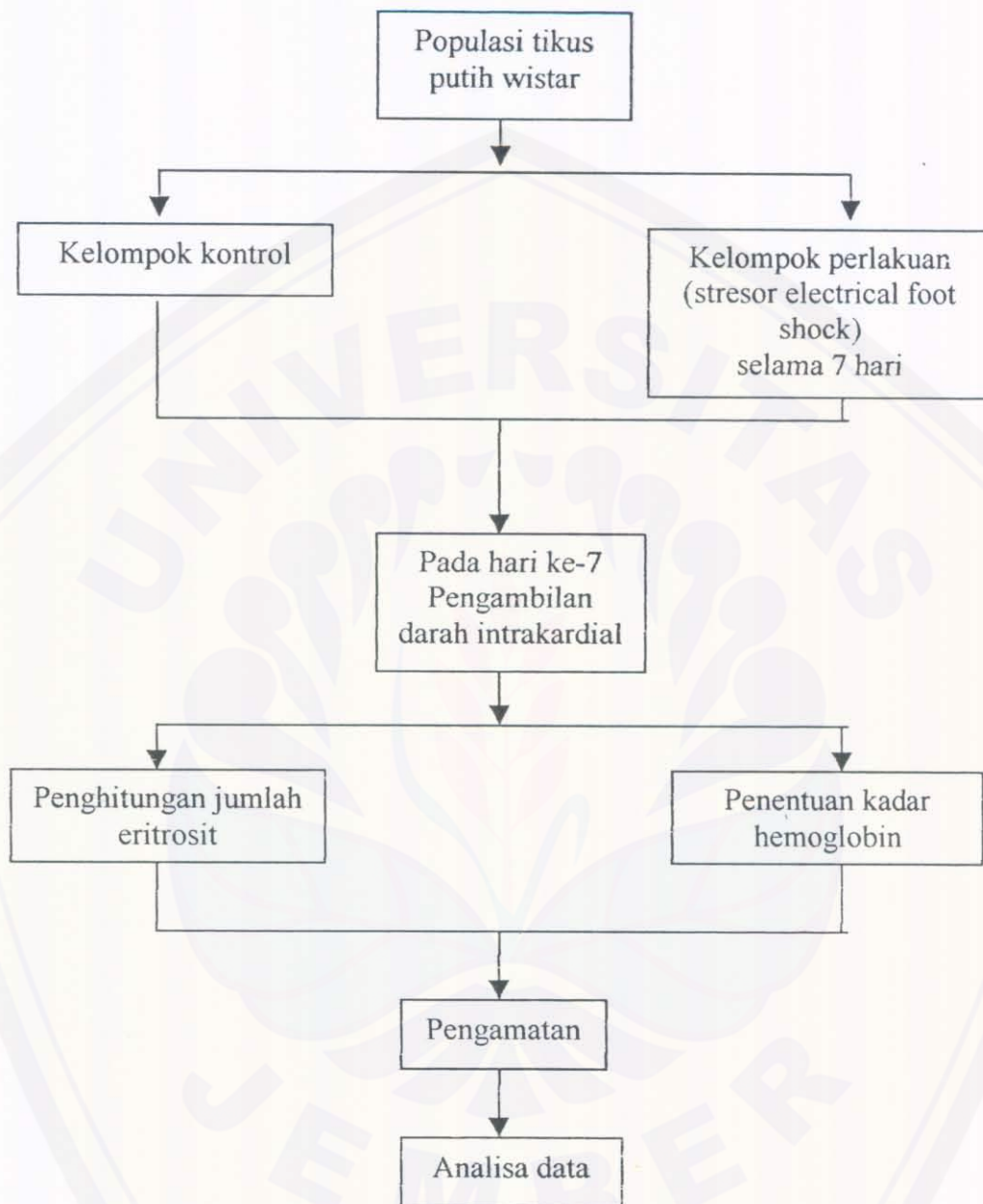
b. Menghitung jumlah sel

Menghitung jumlah sel diuraikan pada lampiran 3. Jenis kamar penghitung yang digunakan adalah Improved Neubaur yang ditunjukkan gambar 6 pada lampiran 6.

3.6.4. Penentuan Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin ditentukan dengan menggunakan teknik Sahli, seperti yang diuraikan pada lampiran 4.

3.7 Alur penelitian



3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji normalitas dan homogenitas dilanjutkan dengan uji parametrik *independent t-test* dengan tingkat kemaknaan 95% untuk mengetahui perbedaan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN ANALISA DATA

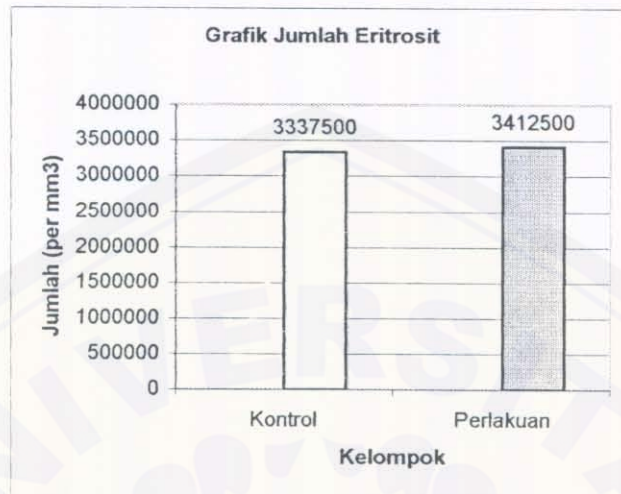
4.1 Hasil Penelitian

Penelitian tentang pengaruh stresor rasa sakit berupa renjatan listrik atau “*electrical foot shock*” terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah pada tikus putih *wistar* jantan telah dilakukan di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Kesehatan Daerah Dinas Kesehatan Kabupaten Jember pada bulan Oktober-November 2004. Obyek penelitian berupa 16 ekor tikus putih *wistar* jantan yang dibagi menjadi dua kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol hanya diberi makanan standar dan diadaptasikan dalam kandang, sedangkan kelompok perlakuan diberi makanan standar dan diberi stresor rasa sakit *electrical foot shock*. Pada hari ke tujuh semua tikus dikorbankan dan diambil darah intrakardial untuk dihitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah. Hasil penelitian disajikan pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Jumlah eritrosit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Sampel	Jumlah Eritrosit	
	Kontrol (/mm ³)	Perlakuan (/mm ³)
1	3200000	3500000
2	3200000	3700000
3	3000000	3500000
4	3500000	3200000
5	3200000	3800000
6	3400000	3000000
7	3700000	3400000
8	3500000	3200000
Rata-Rata	3337500	3412500

Berikut ini adalah grafik jumlah eritrosit berdasar rata-rata hasil penghitungan tabel 1 :

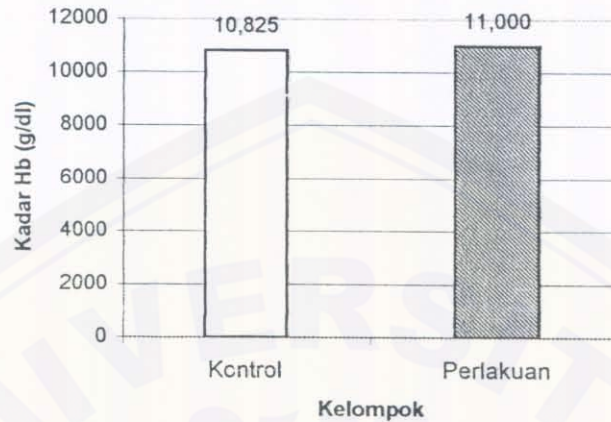


Gambar 3. Grafik jumlah eritrosit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel 2. Kadar Hb kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Sampel	Kadar Hemoglobin	
	Kontrol (g/dl)	Perlakuan (g/dl)
1	10,30	11,30
2	10,30	11,80
3	9,80	11,80
4	11,30	10,80
5	10,80	11,40
6	11,00	9,80
7	11,80	10,80
8	11,30	10,30
Rata-Rata	10,825	11,00

Berikut ini adalah grafik kadar hemoglobin berdasar rata-rata hasil penghitungan tabel 2 :



Gambar 4. Grafik kadar Hb kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Berdasarkan hasil penghitungan dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah eritrosit kelompok kontrol adalah $3.337.500/\text{mm}^3$ dan rata-rata jumlah eritrosit kelompok perlakuan adalah $3.412.500/\text{mm}^3$, sedangkan rata-rata kadar hemoglobin kelompok kontrol 10,825 g/dl dan rata-rata kadar hemoglobin kelompok perlakuan adalah 11,00 g/dl. Sehingga dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan lebih besar dibanding rata-rata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin kelompok kontrol.

4.2 Analisa Data

Data penelitian dianalisa secara statistik menggunakan uji parametrik independent t-test program SPSS 10 dengan tingkat kemaknaan 95% untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara dua variabel. Guna memenuhi ketentuan uji parametrik maka analisa data ini didahului dengan uji normalitas dan uji homogenitas. Untuk menguji normalitas data digunakan uji Kolmogorov – Smirnov test dan untuk menguji homogenitas data dilakukan uji test of *homogeneity of variances*. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil uji normalitas jumlah eritrosit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Pengamatan	Kelompok	N	Mean	Sig
Jumlah Eritrosit	Kontrol	8	3.337.500	0,799
	Perlakuan	8	3.412.500	0,987
Kadar Hb	Kontrol	8	10,825	0,984
	Perlakuan	8	11,00	0,983

Berdasarkan hasil uji normalitas jumlah eritrosit (tabel 3) diketahui bahwa probabilitas (p) kelompok kontrol = 0,799 dan probabilitas (p) kelompok perlakuan = 0,987, maka berarti $p > 0,05$. Demikian pula dari hasil uji normalitas kadar hemoglobin juga diketahui bahwa probabilitas (p) kelompok kontrol = 0,984 dan probabilitas (p) kelompok perlakuan = 0,983 maka $p > 0,05$. Sehingga diketahui bahwa data hasil penelitian ini memiliki distribusi normal.

Tabel 4. Hasil uji homogenitas jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Pengamatan	Levene Statistic	df1	df 2	Sig
Jumlah Eritrosit	0,156	1	14	0,699
Kadar Hb	0,081	1	14	0,780

Berdasarkan uji homogenitas (tabel 4) dapat diketahui bahwa probabilitas (p) jumlah eritrosit = 0,699, berarti $p > 0,05$ dan probabilitas (p) kadar hemoglobin = 0,780, berarti $p > 0,05$. Dengan demikian dapat diketahui bahwa ragam dari semua kelompok sampel pada penelitian ini adalah homogen.

Setelah diketahui bahwa data hasil penelitian ini berdistribusi normal dan memiliki varian yang sama maka dapat dilakukan uji parametrik yaitu *independent t-test* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil *independent t-test* dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisa independent t-test untuk membandingkan jumlah eritrosit dan kadar Hb antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Pengamatan	t-statistic	df	Sig
Jumlah Eritrosit	0.603	14	0,556
Kadar Hb	0,511	14	0,618

Tabel 5 menunjukkan bahwa probabilitas jumlah eritrosit (p) = 0,556 dan probabilitas kadar hemoglobin (p) = 0,618, dimana $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

BAB V PEMBAHASAN

Penelitian ini berada dalam ruang lingkup penelitian yang bertujuan mengungkap perubahan-perubahan pada tubuh akibat stresor. Penelitian jenis eksperimental laboratoris dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya. Pemberian stresor berupa "*electrical foot shock*" dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng tembaga didasar kandang perlakuan tempat kaki tikus berpijak berpedoman pada penelitian Sumintari (1997) yang ternyata bisa meningkatkan kadar kortisol darah dan mencapai puncak pada hari ke-7. Pada hari ke tujuh semua tikus dikorbankan dan diambil darah intrakardial untuk dihitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember, data yang diperoleh dianalisa secara statistik menggunakan uji parametrik independent t-test program SPSS 10 dengan tingkat kemaknaan 95% untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara dua variabel. Guna memenuhi ketentuan uji parametrik maka analisa data ini didahului dengan uji normalitas dan uji homogenitas.

Berdasarkan hasil uji normalitas jumlah eritrosit (tabel 3) diketahui bahwa probabilitas (p) kelompok kontrol = 0,799 dan probabilitas (p) kelompok perlakuan = 0,987, maka berarti $p > 0,05$. Demikian pula dari hasil uji normalitas kadar hemoglobin juga diketahui bahwa probabilitas (p) kelompok kontrol = 0,984 dan probabilitas (p) kelompok perlakuan = 0,983 maka $p > 0,05$. Sehingga diketahui bahwa data hasil penelitian ini memiliki distribusi normal.

Berdasarkan uji homogenitas (tabel 4) dapat diketahui bahwa probabilitas (p) jumlah eritrosit = 0,699, berarti $p > 0,05$ dan probabilitas (p) kadar hemoglobin = 0,780, berarti $p > 0,05$. Dengan demikian dapat diketahui bahwa ragam dari semua kelompok sampel pada penelitian ini adalah homogen.

Setelah diketahui bahwa data hasil penelitian berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilakukan uji parametrik independent t-test untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil analisa independent t-test (tabel 5) menunjukkan bahwa probabilitas jumlah eritrosit (p) = 0,556 dan probabilitas kadar hemoglobin (p) = 0,618, dimana $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dengan intensitas renjatan yang telah ditentukan tidak berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah pada tikus *wistar* jantan.

Hasil penelitian tidak sesuai dengan hipotesa karena dipengaruhi oleh dua keadaan yang saling bertolakbelakang. Di satu sisi peningkatan kortisol akibat stresor dapat mempercepat eritropoiesis melalui peningkatan hormon eritropoietin, sedang disisi lain peningkatan kortisol dapat memperlambat eritropoiesis dengan cara penurunan proses hemopoiesis, sehingga jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah tidak mengalami perubahan atau tetap.

Mekanisme penurunan eritropoiesis ini dilakukan dengan mengadakan penekanan pada sumsum tulang. Sekresi kortisol yang berlebihan akibat stresor ini menyebabkan penurunan pengangkutan asam amino dan mitosis sel didalam sumsum tulang, sehingga proses proliferasi sel mengalami gangguan. Terganggunya proses proliferasi ini menyebabkan penurunan hemopoiesis, termasuk eritropoiesis, yang berakibat menurunnya pula jumlah eritrosit dan hemoglobin (Price, 1994).

Peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin disebabkan oleh peningkatan sekresi *adenokortikosteroid hormon* (ACTH) yang kemudian mengakibatkan peningkatan kadar kortisol dalam darah. Efek utama dari kortisol terhadap sistem metabolisme tubuh adalah kemampuannya memetabolisme asam amino yang berguna bagi sel untuk mensintesis protein. Kortisol mampu mengurangi penyimpanan protein di seluruh sel tubuh. Keadaan ini disebabkan oleh berkurangnya sintesis protein dan meningkatnya katabolisme protein yang sudah ada di dalam sel. Kedua efek ini sebagai akibat dari berkurangnya

pengangkutan asam amino ke seluruh jaringan tubuh, termasuk paru-paru dan jantung. Berkurangnya pengangkutan asam amino pembentuk protein bagi paru-paru dan jantung dapat menyebabkan gangguan sistem sirkulasi, pernafasan dan detak jantung (Guyton, 1997).

Gangguan pada sistem pernafasan mengakibatkan menurunnya kemampuan paru-paru dalam memenuhi kebutuhan oksigen ke jaringan-jaringan di seluruh tubuh sehingga jaringan mengalami kekurangan oksigen (hipoksia). Keadaan hipoksia inilah yang dapat mempercepat produksi eritrosit (eritropoiesis). Jadi, menurut Guyton (1997) bukan konsentrasi eritrosit yang mengatur kecepatan eritropoiesis, melainkan kemampuan fungsional sel untuk mengangkut oksigen ke jaringan sehubungan dengan kebutuhannya akan oksigen.

Faktor utama yang dapat merangsang eritropoiesis adalah hormon dalam sirkulasi yang disebut *eritropoietin*, yaitu suatu glikoprotein dengan berat molekul kira-kira 34.000. Menurut Guyton (1997), kira-kira 90 % dari seluruh eritropoietin dibentuk dalam ginjal, sisanya terutama dibentuk dalam hati. Bila eritropoietin ini tidak ada, maka keadaan hipoksia tidak akan berpengaruh atau pengaruhnya sedikit sekali dalam perangsangan eritropoiesis. Sebaliknya, bila sistem eritropoietin ini berfungsi, maka hipoksia dengan nyata meningkatkan produksi eritropoietin, dan eritropoietin selanjutnya memperkuat eritropoiesis sampai keadaan hipoksia tertanggulangi.

Sebagaimana halnya dengan penelitian lain, sudah dapat ditentukan bahwa pengaruh utama eritropoietin adalah merangsang produksi proeritroblas dari sel-sel stem hemopoietik dalam sumsum tulang, dimana sumsum tulang ini merupakan tempat utama diproduksi sel darah. Selain itu, begitu proeritroblas terbentuk, maka eritropoietin juga menyebabkan sel-sel ini dengan cepat melalui berbagai tahap eritroblastik, dan selanjutnya akan melampaui batas kecepatan produksi sel baru. Cepatnya produksi sel ini terus berlangsung selama tetap dalam keadaan hipoksia atau sampai jumlah eritrosit yang terbentuk cukup untuk mengangkut oksigen ke jaringan walaupun kadar oksigen rendah (Guyton, 1997).

Bila tidak ada eritropoietin, maka sumsum tulang hanya membentuk sedikit eritrosit. Pada keadaan ekstrim lain, bila jumlah eritropoietin yang

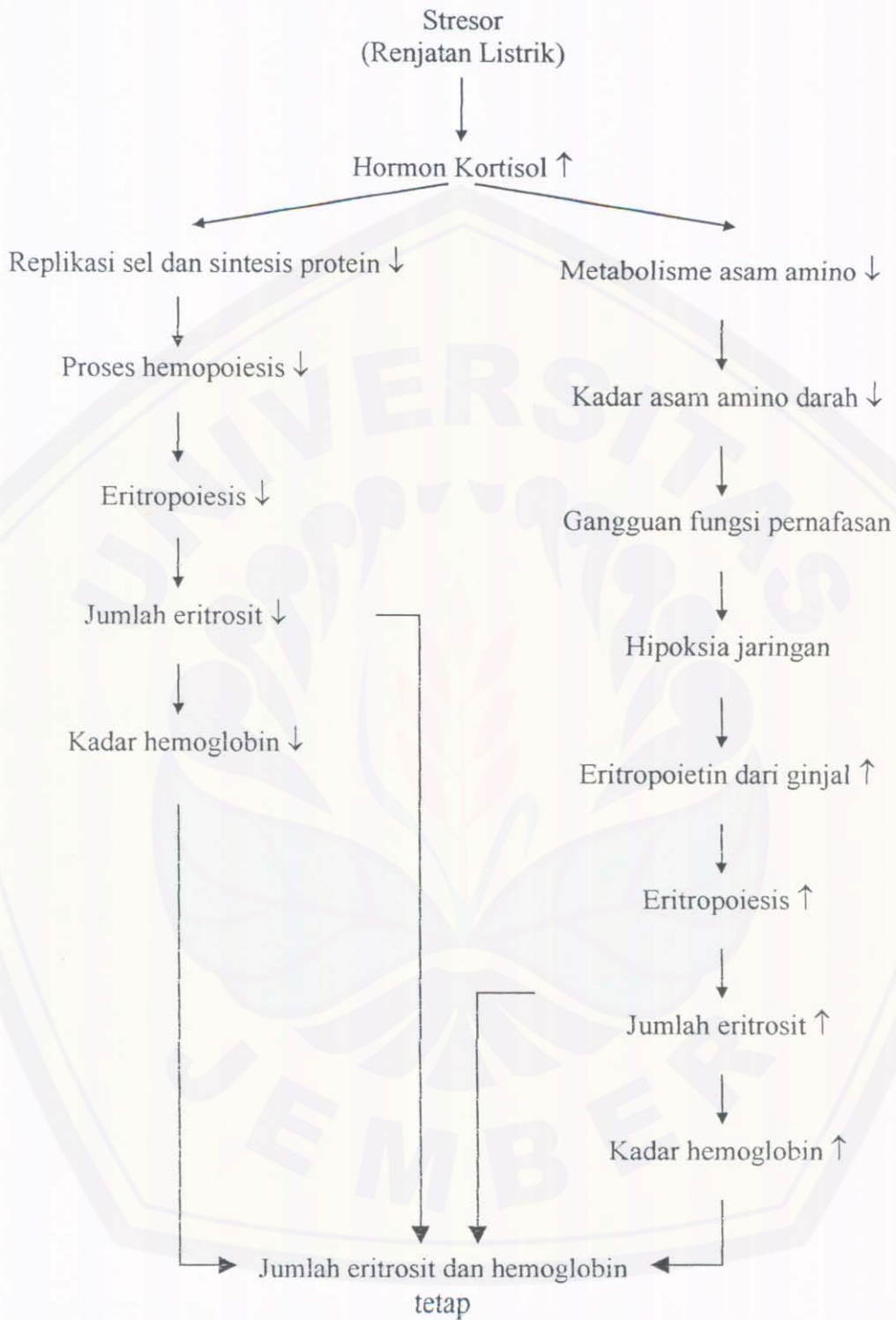


terbentuk banyak sekali, dan jika tersedia banyak sekali besi dan bahan nutrisi lainnya yang diperlukan, maka kecepatan eritropoiesis dapat meningkat sampai sepuluh kali lipat atau bahkan lebih. Oleh karena itu, mekanisme pengaturan eritropoietin untuk eritrosit merupakan suatu mekanisme yang sangat berpengaruh (Wintrobe, 1997).

Kandungan eritrosit adalah senyawa kimia terdiri dari suatu lipid dan kompleks protein koloid, terutama hemoglobin, yang tidak hanya menyebabkan eritrosit berwarna merah, tetapi juga ikut menentukan bentuk eritrosit. Meningkatnya eritropoiesis dalam keadaan hipoksia tersebut menyebabkan meningkatnya pula sintesis hemoglobin. Hal ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan hemoglobin dalam pengangkutan oksigen sehingga dapat menanggulangi keadaan hipoksia di seluruh jaringan (Guyton, 1997).

Pada penyelidikan yang menggunakan isotop telah diketahui bahwa bagian hem dari molekul hemoglobin itu disintesis terutama dari asam asetat dan glisin yang terjadi di dalam mitokondria. Selanjutnya asam asetat dan glisin akan bergabung dengan dua molekul glisin yang lain untuk membawa satu senyawa pirol. Dan sebaliknya, empat senyawa ini akan saling berikatan untuk membentuk senyawa protoporfirin. Salah satu protoporfirin tersebut dikenal sebagai protoporfirin IX yang selanjutnya akan berikatan dengan besi untuk membentuk molekul hem. Kemudian empat molekul hem itu akan berikatan dengan ikatan polipeptid yang panjang dan disintesis oleh ribosom, membentuk suatu sub unit dari hemoglobin yang disebut sebagai rantai hemoglobin. Tiap-tiap rantai ini mempunyai berat molekul sekitar 16.000 dan empat dari molekul ini selanjutnya akan bergabung satu sama lainnya untuk membentuk molekul hemoglobin yang lengkap (Guyton, 1997).

Dua keadaan bertolak belakang yang menyebabkan data hasil penelitian tidak signifikan seperti yang diuraikan diatas, mekanismenya dapat digambarkan sebagai bagan dibawah ini.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Tidak ada perubahan jumlah eritrosit setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.
2. Tidak ada perubahan kadar hemoglobin setelah pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik pada tikus putih *wistar* jantan.

6.2 Saran

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan jenis stresor yang lain dengan variabel yang sama untuk mengetahui perbedaannya.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh stresor renjatan listrik pada bagian tubuh yang lain.
3. Disarankan untuk penelitian selanjutnya menggunakan metode pemeriksaan yang lebih baik, sehingga hasilnya dapat lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1996. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. Jakarta: Balai Penerbitan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Asnar, E.T.P. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respons Imun Mukosal Tikus yang Stres Akibat Stresor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi*. Disertasi program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Baker, HJ. JR. 1980. *The Laboratory Rat. Vol.1. Research Application*. Sandiego: Academic Press Inc.
- Bellanti, Z.A. 1993. *Imunologi III*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Boediwarsono, dkk. 1988. Pendidikan Dokter Berkelanjutan. Dalam *Muktamar XX IDI*. Surabaya: Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Cormack, DH. 1994. *Ham Histologi Jilid I Edisi 9*. Alih Bahasa Jan Tambayong. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Dacie,SJV, S.M. Lewis. 1984. *Practical Haematologi Sixth Edition*. London: Churchiel Livingstone.
- Dorland. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Alih bahasa : Tim Penerjemah EGC. Jakarta: EGC.
- Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. 1992. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana Edisi 2*. Jakarta: FKUI.
- Fischbach, FT. 1992. *A Manual Of Laboratory And Diagnostic Tests 4th. Ed*. Philadelphia: J.B. lippincott Company.
- Ganong, W.F. 1983. *Fisiologi Kedokteran*. Alih bahasa: Adji Dharma. Jakarta: EGC.
- Ganong, WF. 1999. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 17*. Penerjemah M Djauhari Wijaya Kusuma Dari *Review Of Medical Physiologi*. Jakarta : EGC.
- Guyton dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Penerjemah Irawati Setyawan, LMA Ken Ariata T., Alex Santoso. Judul Asli *Medical Textbook Of Physiology* Jakarta : EGC.

- Grenspan, FS. And J.D. Baxter. 2000. *Endokrinologi Dasar dan Klinik*. Alih Bahasa Caroline Wijaya, RF Maulany, Sony Samsudin. Judul Asli *Basic And Clinical Endocrinologi*. Jakarta : EGC.
- Harijanti, K, Mintarsih, M. Jusri. 2003. "Mekanisme Kerja Kortikosteroid Pada Mukositis Rongga Mulut". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III 6 – 9 Agustus 2003*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Henry, JB. 1998. *Clinical Diagnosis And Manajement By laboratory Methods*. 17th. Ed. Sanford: Davidson.
- Hoffbrand, A.V., JE Pettit. 1996. *Kapita Selekta Haematologi*. Alih Bahasa Iyan Darmawan. Judul Asli *Essensial Haematologi*. Jakarta: EGC.
- Janqueira, L.C.J dan Jose Garneiro. 1998. *Histologi Dasar*. Terjemahan Jan Tambayong dari *Basic Histology (1995)*. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Katzung, BG. 2002. *Farmakologi : Dasar dan Klinik*. Penerjemah Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Judul Asli *Basic And Clinical Pharma cology Eight Edition*. Jakarta : Salemba Medika.
- Lawler, W, et al. 1992. *Buku Pintar Patologi untuk Kedokteran Gigi*. Terjemahan Agus Djaya dari *Essential Pathology For Dental Student*. Jakarta: EGC.
- Lee, G.R, J. Lukens, J.P. Greer, J. Foerster, F. Parakevas, G.M. Rodger. 1998. *Wintrobe's Clinical Hamatologi 10th. Ed*. Baltimore: Williams And Wilkins.
- Lesson, TS., C.R. Lesson, A.A. Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi V*. Penerjemah Yan Tambayong, Sugitowonodirekso. Judul Asli *Textbook Of histology*. Jakarta : EGC.
- Liben, P. 1999. "Neurotrausmitter dan Hormon Dalam Psikoneuroimunologi". Dalam *Work Shop Psikoneuroimunologi 25 – 26 September 1999 Kelompok Studi Psikoneuroimunologi Gramik*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Lubis,WH. 2000. "Kebisingan: Pengaruh Terhadap Kesehatan". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara. Volume 5 no: 1*. Medan: FKG USU.
- Mooduto, L. 2003. "Paradigma Imunopatobiologik Pada Pulpitis Reversibel dan Irreversi". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Volume 36 Nomor 3 Juli 2003*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

- Murray, KR, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper Edisi 24*. Alih Bahasa Andry Hartono. Judul Asli *Harper's Biochemistry*. Jakarta : EGC.
- Priandini, D dan G.P. Subita. 1999. Pengaruh Faktor Psikogenik Sebagai Penyebab Sindroma Mulut Terbakar. *Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Edisi Khusus Forum Ilmiah VI 1999. Vol.2. Hal:22-27*. Jakarta:FKG USAKTI.
- Price, SA dan L.M. Wilson. 1994. *Patofisiologi Konsep dan Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 4*. Penerjemah Peter Anugrah. Judul Asli *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes*. Jakarta: EGC
- Putra, ST. 1993. "Peran dan Penerapan Konsep Psikoneuroimunologi Dalam Sport Medicine". Dalam *SDM Lingkungan Hidup Dan Bioteknologi Naskah Lengkap Lustrum II Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga 17 – 18 September 1993*. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Putra, S.T. 2002. Perkembangan Patobiologi di Indonesia. *Dalam Pertemuan Ilmiah Reguler Nasional III Patobiologi. "Paradigma Patobiologi Sebagai Solusi Masalah Berbagai Penyakit. Hal: 1-19*. Surakarta: UNAIR.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Alih Bahasa Brahm U. Pendit. Dari *Human Physiology : From Cell To System*. Jakarta : EGC.
- Soewondo, I.K. 2001. Hubungan Antara Hemoglobin dan Tingkat Kecerdasan Siswa yang Sudah Lama Terpapar Pb. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi 008ES/P/FKG/UNAIR/805.Hal:599-602*. Surabaya: Laboratorium Ilmu Penyakit Mulut FKG UNAIR.
- Steel, R. G. D., James H. T. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistik : Suatu Pendekatan Biometrik Edisi 2*. Alih Bahasa Bambang Sumantri. Judul Asli *Principle And Prosedure Of Statistics Indeks*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Suharmiati dan H. Maryani. 2003. "Mengatasi Stres Dengan Aromaterapi". Dalam *Jurnal Kedokteran dan farmasi Medika No:11 Tahun ke XXIX November 2003*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Sumintarti. 1997. *Pengaruh Asap Rokok dan Stres Terhadap Respons Imun Mencit. Penelitian Experimental Laboratorium*. Disertasi Program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: UNAIR.

- Sulistiyani, E. 2001. "Pengaruh Glukokortikoid Terhadap Sel T Helper". Dalam *Kumpulan Naskah Ceramah Ilmiah dan Poster Ilmiah FKG Unej*. Jember : FKG Unej.
- Sulistiyani, E. 2003. Mekanisme Eksaserbasi Reccurent Aphthous Stomatitis Yang Dipicu Oleh Stresor Psikologis. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Kedokteran III 6-9 Agustus 2003*. Hal: 334-337. Surabaya: FKG UNAIR.
- Suryadhana, NG., Utami, Joeenoer, Farida, Yetty. 1997. " Evaluasi Tingkat Migrasi Neutrofil (OMR) Dalam Mulut Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia Dengan Stres Akademik". Dalam *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. Volume 4. No. 3. Jakarta : FKG UI.
- Tim Patologi Klinik. 2002. *Pedoman dan Petunjuk Praktikum Patologi Klinik*. Jember : Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Underwood, J. C. E. 2000. *Patologi Umum dan Sistemik Edisi 2*. Terjemahan Sarjadi. Judul Asli *General And Systematic Pathologi*. Jakarta : EGC.
- Widmann, FK. 1995. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium Edisi 9*. Penerjemah Siti Boediana K, R. Gandasoebrata, J. Latu. Judul Asli *Clinical Interpretation Of Laboratory Tests*. Jakarta : EGC.
- Wintrobe, M.M, et al. 1981. *Clinical Hematology*. Edisi 8. Philadelphia: Lea and Febiger.

Lampiran 1. Penghitungan Besar Sampel

$$n = \left(\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma\rho^2}{\delta^2} \right)$$

keterangan :

n : jumlah sampel minimal

Z α : Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)

Z β : Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)

$\sigma\rho^2$: diasumsikan $\sigma\rho^2$ ($2\delta^2$)

α : tingkat signifikan (0,05)

β : 0,20

(Steel dan Torrie, 1995)

Lampiran 2. Daftar Komposisi Makanan Standar Tikus**MAKANAN STANDAR TIKUS**

Makanan standar untuk tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis konsentrat yang memiliki komposisi sebagai berikut :

- | | |
|------------|----------|
| 1. Protein | 21% |
| 2. Serat | 4% |
| 3. Lemak | 4% |
| 4. Air | 14% |
| 5. Abu | 6,5% |
| 6. Kalsium | 0,9-1,1% |
| 7. Pospor | 0,7-0,9% |

Sumber : Feedmill Malindo, Gresik

Lampiran 3. Penghitungan Eritrosit

a. Teknik Persiapan Penghitungan Eritrosit

1. Pertama-tama kamar penghitung harus disiapkan yaitu gelas penutup diletakkan di atas kamar penghitung sehingga menutup kedua daerah penghitung. Kamar penghitung diletakkan dibawah mikroskop pelan-pelan dengan tidak merubah posisi mikroskop.
2. Darah dengan antikoagulan dihisap ke dalam pipet eritrosit sampai tanda 0,5. Bila melampaui batas sedikit, darah dapat dikeluarkan dengan menyentuh ujung pipet memakai ujung jari. Bagian luar pipet dibersihkan dengan kapas kering untuk menghilangkan darah yang melekat.
3. Kemudian larutan Hayem dihisap sampai tepat mencapai tanda 101. Selama penghisapan pipet harus diputar-putar melalui sumbu panjangnya supaya darah dan larutan Hayem bercampur dengan baik.
4. Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari dan jari tengah lalu dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya selama dua menit.
5. Larutan Hayem yang terdapat di dalam bagian kapiler dan yang tidak mengandung darah dibuang dengan meneteskan keluar isi pipet enam tetes sebelum perhitungan.
6. Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar penghitung dengan menempatkan ujung pipet pada tepi gelas penutup. Karena daya kapiler, maka larutan darah akan mengalir masuk antara gelas penutup dengan kamar penghitung. Larutan darah yang dimasukkan tidak boleh terlalu banyak, cukup bila sudah mengisi daerah penghitung.
7. Kamar penghitung yang sudah terisi diletakkan dibawah mikroskop dan penghitungan dilakukan dengan menggunakan lensa obyektif 45 X.

b. Menghitung jumlah sel

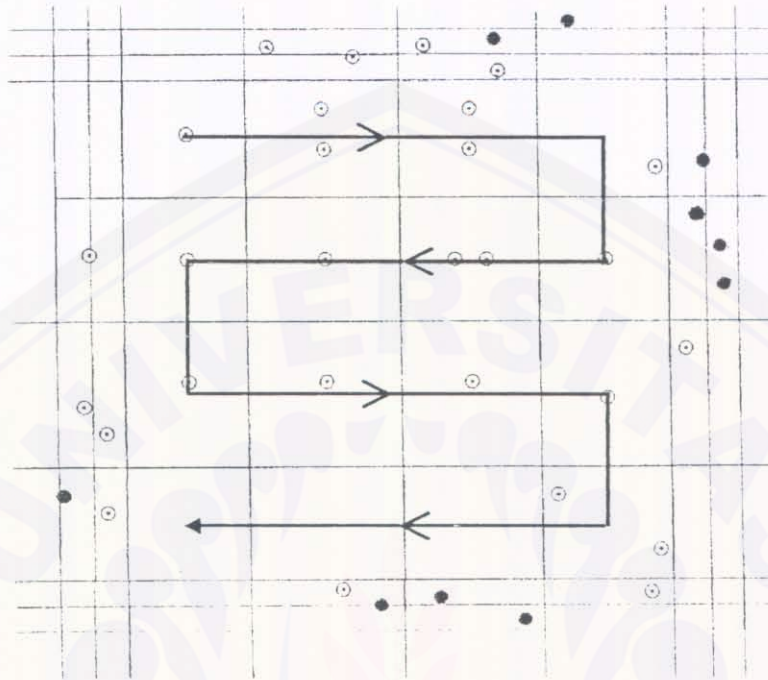
1. Letakkan kamar hitung dengan hati-hati di bawah mikroskop dalam keadaan rata air. Turunkan kondensor atau kecilkan diafragma. Gunakanlah pembesaran kecil untuk mencari daerah yang akan dihitung. Setelah itu penghitungan sel dilakukan dengan menggunakan lensa obyektif 45 X.
2. Dihitung jumlah eritrosit yang terdapat dalam empat persegi panjang A, B, C, D dan E. Kelima empat persegi panjang ini masing-masing mempunyai volume $1/250$ cmm. Cara menghitung eritrosit di dalam kamar hitung dapat dilihat pada gambar 1. Mulailah menghitung dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri, lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan. Cara seperti ini dilakukan pada ke empat bidang besar. Kadang – kadang ada sel-sel yang letaknya menyinggung garis batas sesuatu bidang. Sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung. Sebaliknya sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak ikut dihitung (Tjokronegoro, 1996).

Lampiran 4. Penentuan Kadar Hemoglobin

Teknik Sahli :

1. Tabung hemometer diisi larutan HCl 0,1 N sampai tanda 2 g%.
2. Darah dengan antiakoagulan dihisap sampai tepat tanda 20 cmm.
3. Bagian luar dari pipet dibersihkan dengan kapas kering, tidak boleh menghisap darah yang ada dalam pipet.
4. Darah segera ditiup ke dalam larutan HCl dalam tabung hemometer tanpa menimbulkan gelembung udara.
5. Sebelum dikeluarkan, pipet dibilas dulu dengan menghisap dan meniup HCl yang ada di tabung beberapa kali. Bagian luar dari pipet juga dibilas dengan beberapa tetes larutan HCl 0,1 N atau aquades.
6. Ditunggu 10 menit untuk pembentukan asam hematin (95%).
7. Asam hematin ini diencerkan dengan aquades tetes demi tetes sambil diaduk sampai didapat warna yang sama dengan warna standard.
8. Miniskus dari larutan dibaca dan dinyatakan dalam g/dl.

Lampiran 5. Cara Menghitung Eritrosit Didalam Kamar Hitung



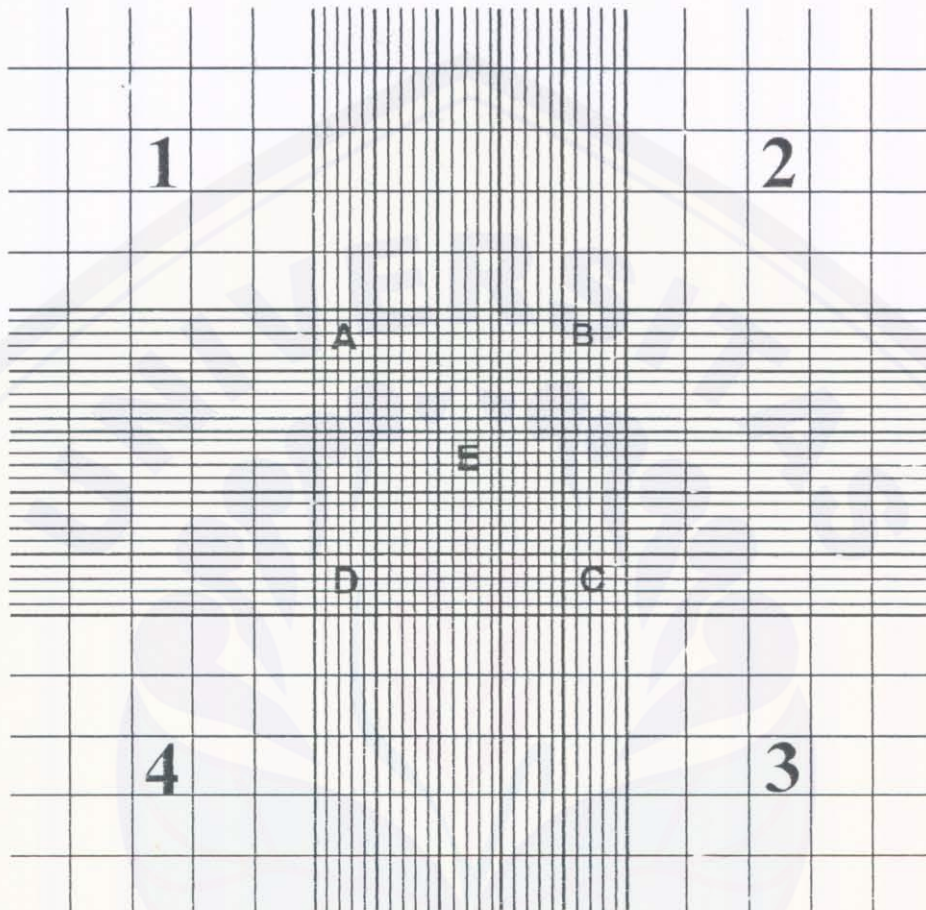
Keterangan :

- sel yang dihitung
- sel yang tidak dihitung

Gambar 5. Cara Menghitung Eritrosit Didalam Kamar Hitung

Lampiran 6. Kamar Hitung Improved Neubaur

IMPROVED NEUBAUR



Gambar 6. Pembagian Kamar Hitung

Uji Normalitas Data (Transform Log)

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol	8	6.5225	2.943E-02	6.48	6.57
Perlakuan	8	6.5319	3.451E-02	6.48	6.58

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.5225	6.5319
	Std. Deviation	2.943E-02	3.451E-02
Most Extreme Differences	Absolute	.223	.156
	Positive	.223	.156
	Negative	-.152	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.630	.440
Asymp. Sig. (2-tailed)		.822	.990

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Independent Sample T-Test (Transform Log)

Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah Erythrocyte (Transform Log)	Perlakuan	8	6.5319	3.451E-02	1.220E-02
	Kontrol	8	6.5225	2.943E-02	1.040E-02

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah Erythrocyte (Transform Log)	Equal variances assumed	.113	.742	.582	14	.570	9.329E-03	1.604E-02	-2.51E-02	4.372E-02
	Equal variances not assumed			.582	13.659	.570	9.329E-03	1.604E-02	-2.51E-02	4.380E-02

Uji Normalitas Data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol	8	10.8250	.6585	9.80	11.80
Perlakuan	8	11.0000	.7111	9.80	11.80

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.8250	11.0000
	Std. Deviation	.6585	.7111
Most Extreme Differences	Absolute	.162	.163
	Positive	.162	.130
	Negative	-.140	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z		.459	.462
Asymp. Sig. (2-tailed)		.984	.983

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Independent Sample T-Test

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Hb	Perlakuan	8	11.0000	.7111	.2514
	Kontrol	8	10.8250	.6585	.2323

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar Hb	Equal variances assumed	.081	.780	.511	14	.618	.1750	.3427	-.5599	.9099
	Equal variances not assumed			.511	13.918	.618	.1750	.3427	-.5603	.9103

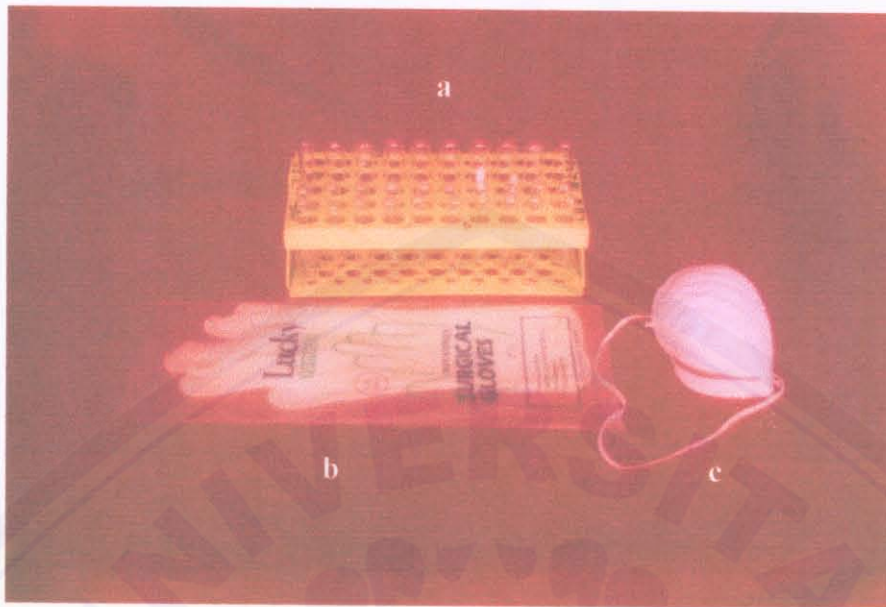
Lampiran 9. Foto Alat dan Bahan Penelitian

Keterangan gambar : Mikroskop binokuler



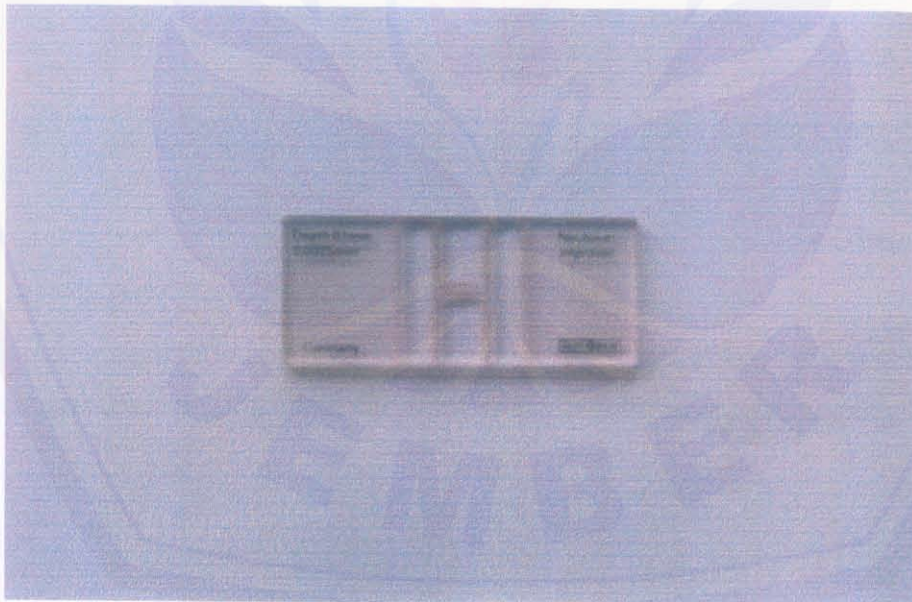
Keterangan gambar:

- a. Timbangan
- b. Pinset
- c. Gunting bedah
- d. *Blade scalpel*
- e. Jarum fiksasi
- f. Stopwatch

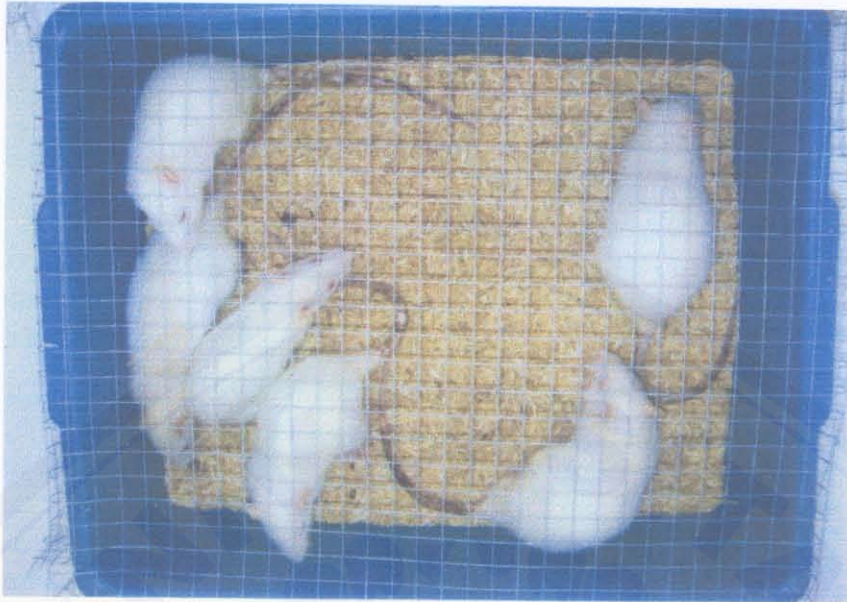


Keterangan gambar :

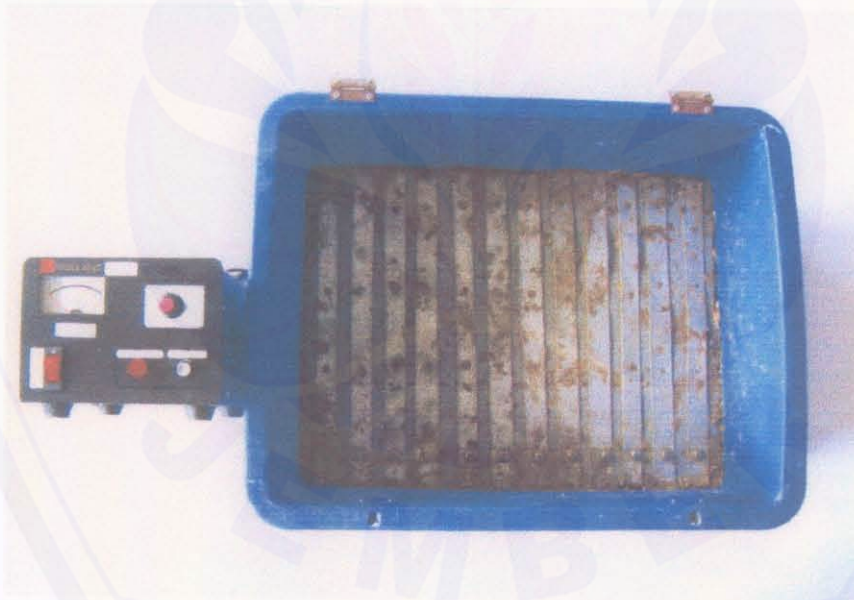
- a. Tabung reaksi
- b. Sarung tangan
- c. Masker



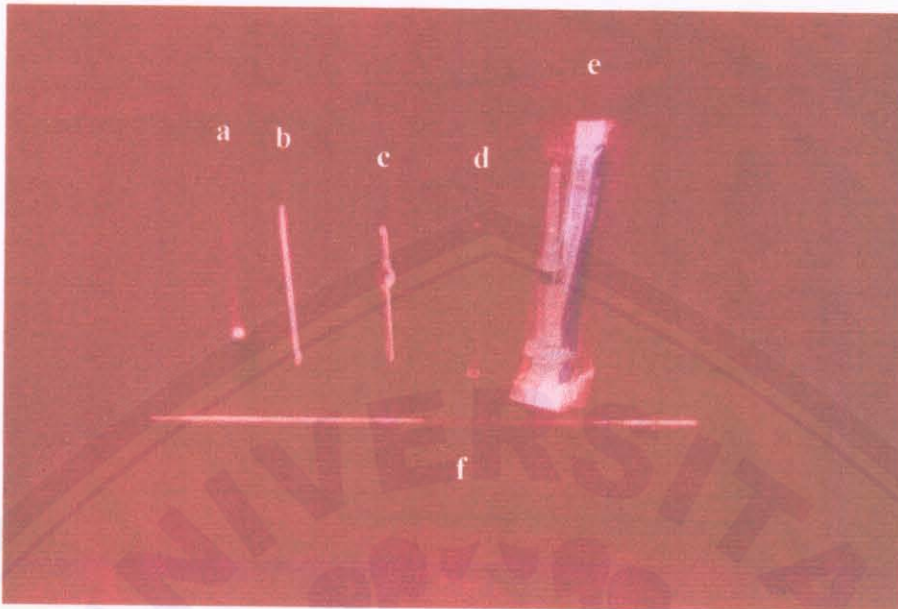
Keterangan gambar : Kamar hitung Improved Neubaur



Keterangan gambar : Kandang pemeliharaan

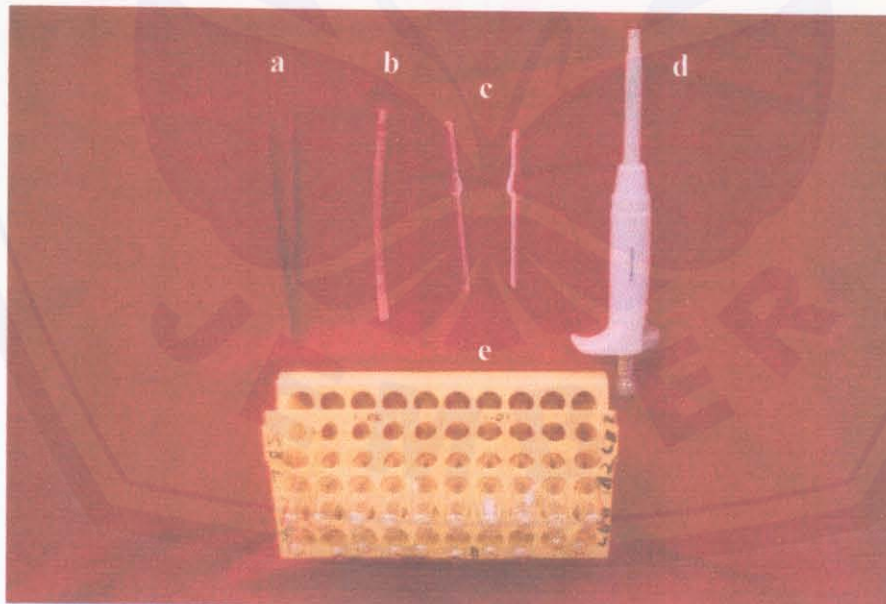


Keterangan gambar: *Electrical Foot Shock*



Keterangan gambar :

- a. Pipet pasteur
- b. Pipet kapiler Sahli
- c. Pipet eritrosit
- d. Pipet hemometer
- e. Disposable syringe
- f. Pipet volumetrik milimeter



Keterangan gambar :

- a. Pinset
- b. Pipet isap
- c. Pipet eritrosit
- d. Pipet volumetrik mikroliter
- e. Tabung reaksi



Keterangan gambar :

- a. EDTA
- b. Eter
- c. Amonium oxalat 1 %
- d. Larutan Hayem

Lampiran 10. Hasil Perhitungan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Kelompok



Kontrol
 PEMERINTAH KABUPATEN JEMBER
 DINAS KESEHATAN
 LABORATORIUM KESEHATAN MASYARAKAT
 Jl. Dewi Sartika 56 Telp / Fax. 0331 485803 Jember

HASIL PX DARAH LENGKAP FKG UNEJ

IKA PUJI RANTINI

KONTROL

NO	Hb	Erythrocyte
1.	10,3	3,2 Juta
2.	10,3	3,2 Juta
3.	9,8	3,0 juta
4.	11,3	3,5 Juta
5.	10,8	3,2 juta
6.	11,0	3,4 juta
7.	11,8	3,7 juta
8.	11,3	3,5 juta

Mengetahui ,

Kepala Labkesda



Dr. H. A. Wahyu Widodo, M.Kes
 NIP. 140 170 492

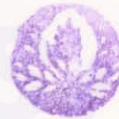
Lampiran 11. Hasil Perhitungan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin
Perlakuan



PEMERINTAH KABUPATEN JEMBER
DINAS KESEHATAN
LABORATORIUM KESEHATAN DAERAH
Jl. Dewi Sartika 56 Telp / Fax. 0331 485803 Jember

HASIL PX DARAH LENGKAP FKG UNEJ

IKA PUJI RANTINI
PERLAKUAN



Unit OPI Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

NO	Hb	Erythrocyte
1.	11,3	3,5 Juta
2.	11,8	3,7 Juta
3.	11,8	3,5 juta
4.	10,8	3,2 Juta
5.	11,4	3,8 juta
6.	9,8	3,0 juta
7.	10,8	3,4 juta
8.	10,3	3,2 juta

Mengetahui ,

Kepala Labkesda



Dr. H.A. Wahyu Widodo, M.Kes
NIP. 140 170 492