

Asal :	Hadiah	S
		Klass
		616.8527
		WID
		P
		C.1

**PENGARUH STRESSOR RASA SAKIT TERHADAP
JUMLAH SEL RADANG PADA JARINGAN
SEKITAR LUKA BAKAR**

(EKSPERIMENTAL LABORATORIS PADA TIKUS *WISTAR* JANTAN)

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**



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



Asal :	Hadiah	S
		Klass
		616.8527
		WID
		P
		C.1
Pengkatalog :	30 MAI 2005	

Oleh :

MARIA TRI WIDIASTUTI
001610101052

Dosen Pembimbing :
drg. Erna Sulistyani, M. Kes (DPU)
drg. Izzata Barid, M. Kes (DPA)

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PENGARUH STRESSOR RASA SAKIT
TERHADAP JUMLAH SEL RADANG
PADA JARINGAN SEKITAR LUKA BAKAR
PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS 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 :

Maria Tri Widiastuti

NIM. 001610101052


DOSEN PEMBIMBING UTAMA



drg. Erna Sulistyani, M.Kes

NIP. 132.148.478

DOSEN PEMBIMBING ANGGOTA



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 : Sabtu

Tanggal : 19 Februari 2005

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ

Tim Penguji

Ketua ,



drg. Erna Sulistyani, M.Kes
NIP. 132.148.478

Sekretaris ,



drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP. 132 162 517

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

Hidup adalah suatu perjuangan, banyak kegagalan dalam hidup terjadi karena orang - orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan karena mereka telah menyerah.

(maria tewe.....)

PERSEMBAHANKU

Karya tulis ini kupersembahkan untuk:

Orang tuaku tercinta Bapak Agustinus Suwardi dan Ibu Margareta Sumisih yang senantiasa memberikan doa dan kasih sayangnya. Semoga Tuhan selalu mengasihi kalian sebagaimana kalian mencurahkan kasih dan sayang kepadaku.

Kakak-kakakku tersayang, Yustina Kristianti dan Dwi Harjono, yang senantiasa memberikan semangat dan menemaniku mengarungi suka duka hidup. Terima kasih telah memberikan segala kasih sayang kalian.

Kekasihku tercinta Bertus Pribadi "David" yang senantiasa memberikan semangat dan mendengar keluh kesahku Bersamamu serasa hilang beban ini.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan atas segala berkat karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI) yang berjudul **Pengaruh Stressor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Sel Radang Pada Jaringan Sekitar Luka Bakar. Penelitian Eksperimental Laboratoris 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 :

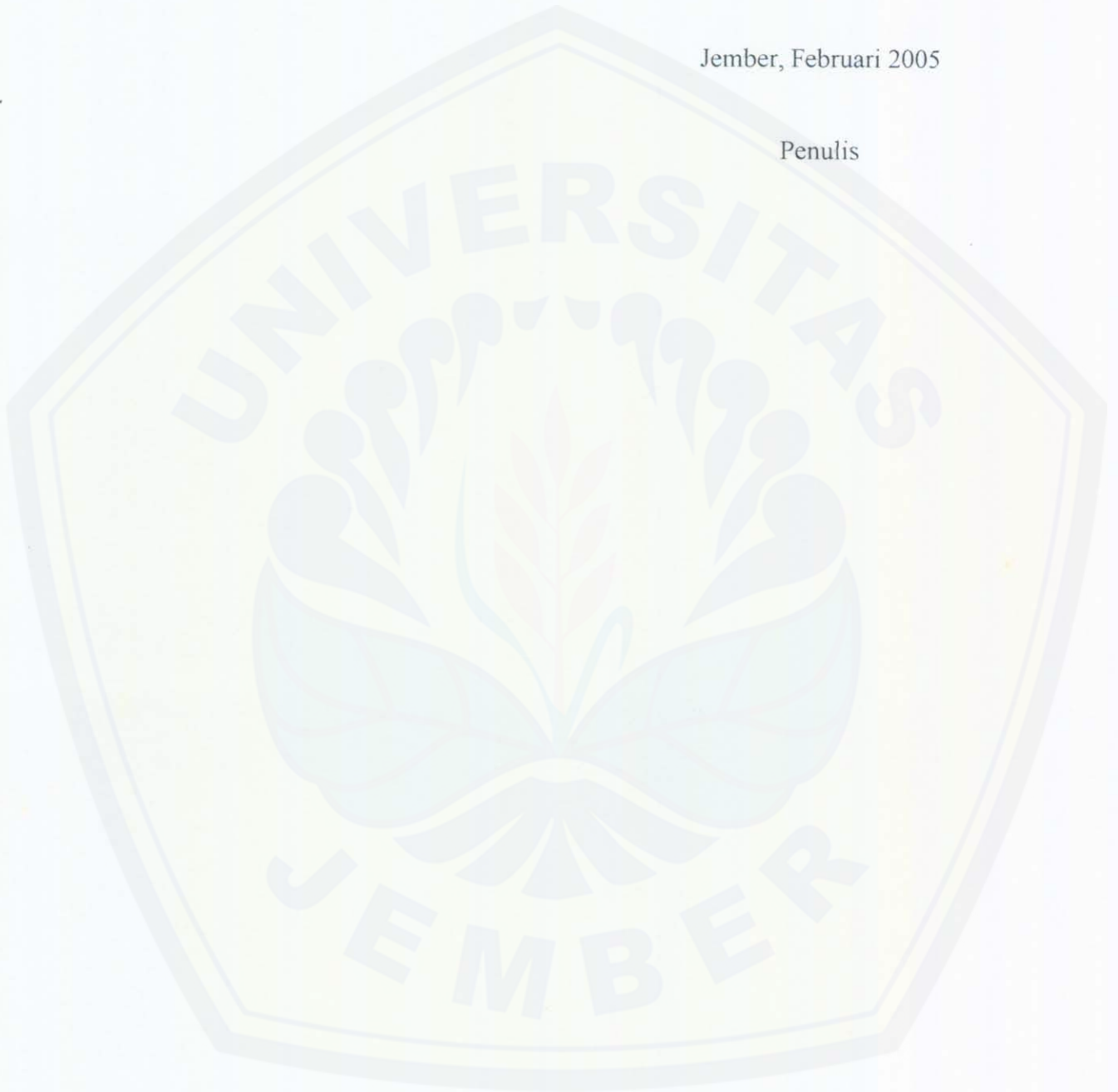
1. drg. Zahreni Hamzah, MS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Erna sulistyani, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Izzata Barid, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Anggota. Yang telah dengan sabar membimbing dan memberi petunjuk dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Semua staf pengajar di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas materi-materi kuliah yang diberikan.
4. Mas Agus, Mas Erwin, Mbak Wahyu dan Mbak Nur yang telah memberikan tempat dan bantuan tenaga serta pikiran selama kami penelitian.
5. Iis, Ika, Mbak Mely dan Hayu atas kerjasama dan kekompakannya.
6. Keluargaku tercinta yang telah memberikan do'a dan dukungan serta motivasi
7. Semua rekan-rekan senasib seperjuangan angkatan 2000 "Semangat Rek!".
8. Warga Kost Danau Toba 4" Ojo rame ae..!" thanks untuk keceriaan kalian yang membuat aku selalu ceria bersama kalian.
9. Hesti, Enti dan Ajeng " Kalian teman – temanku yang paling OK".
10. 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.

Jember, Februari 2005

Penulis



RINGKASAN

Maria Tri Widiastuti, NIM 001610101052 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, “Pengaruh Stressor Rasa Sakit Terhadap Jumlah sel Radang Pada Jaringan Sekitar Luka Bakar”. Penelitian Eksperimental Pada Tikus *Wistar* Jantan, 49 halaman, dibawah bimbingan drg. Erna Sulistyani, M.Kes (DPU) dan drg. Izzata Barid, M.Kes (DPA).

Krisis ekonomi, tuntutan gaya hidup, kemajuan teknologi yang dialami masyarakat Indonesia memicu terjadinya stres. Stres merupakan efek fisiologis terhadap stimulasi yang mengancam. Keadaan yang merangsang adanya stres disebut sebagai stressor. Stressor ini tidak hanya bersifat fisik tetapi juga psikis. Secara umum, stressor berpengaruh terhadap kesehatan individu serta mengancam homeostasis. Ancaman tersebut dapat berupa gangguan sistem imun, endokrin dan saraf. Banyak fakta menunjukkan bahwa individu yang terpapar stressor akan mudah terserang oleh berbagai macam penyakit, karena dalam keadaan stres ketahanan tubuh individu akan menurun namun demikian mekanisme penurunan tersebut belum diketahui dengan jelas.

Salah satu gangguan sistem imun melibatkan sistem seluler yang berkaitan dengan fungsi sel limfosit, neutrofil dan makrofag. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah limfosit, PMN (*neutrofil polymorphonuclear*) dan makrofag pada jaringan sekitar luka bakar pada tikus *wistar* jantan setelah pemberian stressor rasa sakit berupa renjatan listrik. Diharapkan penelitian ini dapat bermanfaat dalam memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stressor rasa sakit terhadap penurunan jumlah sel radang dan dapat berguna dalam aplikasi klinis khususnya kedokteran gigi dalam menangani pasien dengan kondisi stres.

Metode penelitian menggunakan sampel tikus *Wistar* jantan. Sampel terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan diberi stressor renjatan listrik berupa “*electrical foot shock*” dengan mengalirkan arus listrik pada lempeng kuningan di dasar kandang perlakuan. Arus listrik 5 mA, tegangan listrik sebesar 25 V dan frekuensi 60Hz. Pemberian renjatan listrik bertingkat selama 7 hari, pada hari ke 7 hewan coba diberi luka bakar pada punggung kemudian pada hari ke 8 diambil jaringan luka bakarnya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan jumlah sel radang dibawah mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 1000X.

Data hasil penelitian dianalisa dengan menggunakan uji *Independent T test*. Hasil dari uji *Independent T test* didapatkan bahwa jumlah limfosit, PMN dan Makrofag mengalami perbedaaan yang signifikan pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$).

Mekanisme pengaruh stressor renjatan listrik terhadap jumlah limfosit, PMN dan Makrofag diduga disebabkan stressor renjatan listrik dihantarkan melalui HPA axis (hypothalamus-pituitary-adrenal axis), dimana *Corticotropic Releasing Hormon* (CRF) disekresikan menyebabkan peningkatan sekresi *Adenocorticotropic hormon* (ACTH) dan kortisol dalam darah juga akan meningkat. Peningkatan kortisol ini menyebabkan proliferasi limfosit terhambat, migrasi PMN di jaringan inflamasi terhambat dan produksi makrofag terhambat.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	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 Mekanisme Stres	5
2.2 Imunitas.....	5
2.3 Radang.....	7
2.3.1 Mekanisme Radang.....	7
2.3.2 Sel-sel Radang.....	8
2.4 Renjatan Listrik	11
2.5 Luka Bakar	14
2.6 Hipotesis.....	.14

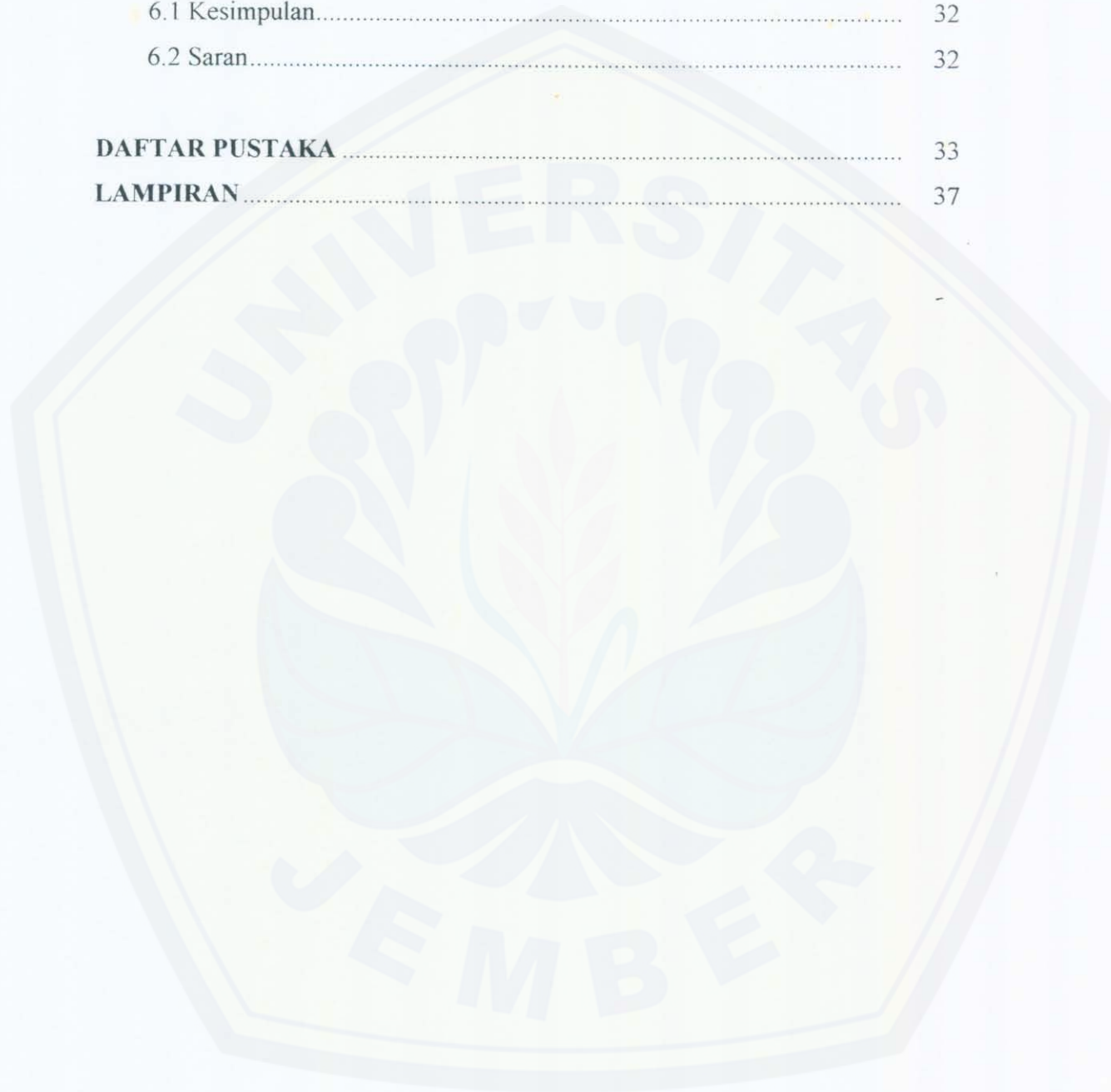
III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian, Tempat , dan Waktu penelitian.....	15
3.1.1 Jenis Penelitian.....	15
3.1.2 Tempat penelitian.....	15
3.1.3 Waktu Penelitian.....	15
3.2 Identifikasi Variabel Penelitian.....	15
3.2.1 Variabel Bebas.....	15
3.2.2 Variabel Terikat.....	15
3.2.3 Variabel Terkendali.....	15
3.3 Definisi Operasional Penelitian.....	16
3.4 Populasi dan Sampel.....	16
3.4.1 Populasi.....	16
3.4.2 Sampel.....	16
3.5 Alat dan Bahan.....	17
3.5.1 Alat.....	17
3.5.2 Bahan.....	18
3.6 Prosedur Penelitian.....	18
3.6.1 Tahap Persiapan.....	18
3.6.2 Tahap Pengelompokan Subjek.....	18
3.6.3 Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba.....	19
3.6.4 Tahap Pengambilan Jaringan.....	19
3.6.5 Tahap Pembuatan Sediaan.....	19
3.6.6 Pengecatan.....	20
3.7 Pengamatan.....	20
3.8 Analisa Data.....	20
3.9 Alur Penelitian.....	21

IV. HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil Penelitian.....	22
4.2 Analisa Data.....	26

V. PEMBAHASAN	28
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan.....	32
6.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	37



DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hasil Rata – Rata Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol	22
Tabel 2.	Hasil Uji Normalitas Data Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag	26
Tabel 3.	Hasil Uji Homogenitas Varians Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag.....	26
Tabel 4.	Hasil Uji Independent T – Test pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Jalur Stressor Renjatan Listrik	13
Gambar 2.	Histogram Rata-rata Jumlah Sel Radang pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol.....	23
Gambar 3.	Foto Gambaran Mikroskopis Limfosit dan PMN pada Kelompok Perlakuan	23
Gambar 4.	Foto Gambaran Mikroskopis Limfosit dan PMN pada Kelompok Kontrol.....	24
Gambar 5.	Foto Gambaran Mikroskopis Makrofag pada Kelompok Perlakuan	24
Gambar 6.	Foto Gambaran Mikroskopis Makrofag Pada Kelompok Kontrol.....	25
Gambar 7.	Diagram Pengaruh Stressor Renjatan Listrik Terhadap Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Makanan Standar Tikus.....	37
Lampiran 2. Penghitungan Besar Sampel	38
Lampiran 3. Skema Pembuatan Sediaan	39
Lampiran 4. Tahap Pengecatan Sediaan.....	40
Lampiran 5. Gambar Alat Dan Bahan Penelitian	41
Lampiran 6. Uji Normalitas, Uji Homogenitas Dan Uji <i>Independent T Test</i> Jumlah Limfosit.....	44
Lampiran 7. Uji Normalitas, Uji Homogenitas Dan Uji <i>Independent T Test</i> PMN	46
Lampiran 8. Uji Normalitas, Uji Homogenitas Dan Uji <i>Independent T Test</i> Jumlah Makrofag.....	48



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada masa krisis ekonomi yang berkepanjangan seperti saat ini, tuntutan gaya hidup, kemajuan teknologi disertai masalah-masalah yang kompleks ditengah-tengah masyarakat dapat menimbulkan suatu stres atau ketegangan. Stres atau ketegangan tidak hanya ditimbulkan dari stressor psikis saja (Sulistiyani, 2003). Stressor dapat berupa stressor fisik, sebagai contoh yaitu stressor rasa sakit (Soenarjo, 1997). Stressor yang datang secara terus menerus akan menyebabkan suatu ancaman berupa gangguan sistem imun. Salah satu gangguan sistem imun melibatkan sistem seluler yang berkaitan dengan fungsi sel limfosit, neutrofil dan makrofag (Selye, 1974). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui hubungan stressor dengan timbulnya suatu penyakit, tetapi hubungan antara stressor rasa sakit dengan penurunan jumlah sel radang (limfosit, PMN dan makrofag) pada jaringan masih belum jelas.

Pada stres yang parah dapat terjadi kerusakan daya tahan tubuh seseorang, mengurangi kemampuan melawan bakteri dan virus-virus yang menyerang. Lebih dari 50 persen segala masalah kesehatan berkaitan dengan stres (Atkinson, 1999). Penelitian yang dilakukan Holmes dalam Hawari (2001) terhadap para eksekutif (yang bergerak dibidang usaha dan politik) menunjukkan bahwa 80 % dari responden mengalami gangguan emosional, depresi dan penyakit lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar manusia pernah mengalami stres yang dapat mengancam timbulnya suatu penyakit atau infeksi. Berbagai macam stressor dapat merangsang sekresi kortisol. Penelitian terhadap hewan coba oleh Achmad (1996) dalam Asnar (2001) membuktikan bahwa peningkatan kortisol akibat pemberian stressor pada tikus jantan dapat mempengaruhi respons imun. Pada penelitian Sumintarti dalam Asnar (2001) bahwa pemberian stressor rasa sakit berupa renjatan listrik dapat meningkatkan kortisol dan menurunkan jumlah leukosit pada darah tepi tikus. Berbagai penelitian telah membuktikan pada keadaan stres terjadi penekanan sistem imunitas tubuh dan penekanan terhadap

stimuli atau penurunan jumlah limfosit, PMN dan makrofag. Penurunan jumlah sel radang tersebut dapat menghambat terjadinya proses penyembuhan (Keller, 1981; Cheng, 1990). Terganggunya proses penyembuhan akan mengakibatkan infeksi dan masalah-masalah lain yang lebih parah. Dari masalah - masalah tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat pengaruh stressor rasa sakit terhadap jumlah limfosit, PMN dan makrofag pada tikus *Wistar* jantan yang diberi luka bakar pada punggung sebagai respon terhadap peradangan.

Stres merupakan istilah yang memiliki arti yang sangat luas dan sering membingungkan. Stres yang dialami masing-masing individu berbeda-beda sehingga sulit membuat stressor yang seragam dan respon yang dihasilkan masing-masing individu berbeda-beda dan stres sendiri bersifat subyektif dan sulit diukur, maka sampai saat ini mekanisme antara stres dan timbulnya suatu penyakit masih belum banyak diteliti (Tarmidi, 1999). Dilain pihak untuk melihat pengaruh stres terhadap respon imun menjadi sulit tanpa adanya definisi yang tepat mengenai stres dan stressor.

Menurut *Medicophysiological Approach* (MA), stres merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam sehingga stres merupakan variabel tergantung. Berdasarkan pendekatan MA adalah respons terhadap stressor. Pendekatan ini berpendapat bahwa stressor tidak hanya terbatas pada stressor psikis (Sulistiyani, 2003). Menurut Basso dan Kaplan (1996) stressor rasa sakit yang ditimbulkan oleh renjatan listrik dapat menimbulkan stres pada individu. Dari pemikiran-pemikiran tersebut, maka penulis ingin mengetahui apakah stressor rasa sakit dapat mempengaruhi jumlah sel radang pada jaringan sekitar luka bakar. Pada penelitian ini menggunakan tikus dari galur murni *wistar* jantan sebagai hewan percobaan karena tikus termasuk hewan golongan omnivora yang memiliki sistem neuroendokrin yang sama dengan manusia dan mempunyai beberapa keuntungan antara lain mempunyai siklus hidup yang relatif panjang, pemeliharaannya cukup mudah (Baker, 1980). Stressor yang digunakan adalah stressor rasa sakit *electrical foot shock* dimana penjalaran arus listriknya dari kaki ke seluruh tubuh sehingga akan memberikan respon berupa rasa sakit (Asnar, 2001). Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratoris karena baik

sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmojo, 2002).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas dapat dirumuskan permasalahan, apakah terdapat perubahan jumlah limfosit, PMN dan makrofag pada jaringan sekitar luka bakar tikus *Wistar* jantan yang diberi stressor rasa sakit renjatan listrik ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk membuktikan perubahan pada jumlah limfosit, PMN (*neutrofil polymorphonuclear*) dan makrofag pada jaringan sekitar luka bakar tikus *Wistar* setelah pemberian stressor rasa sakit renjatan listrik.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh stressor terhadap jumlah limfosit, PMN dan makrofag.
2. Hasil penelitian ini diharapkan berguna bagi bidang kesehatan khususnya kesehatan gigi dan mulut bahwa stressor rasa sakit dapat mempengaruhi respon imun di rongga mulut.
3. Dapat digunakan dalam aplikasi klinis khususnya dalam bidang kedokteran gigi dalam menangani pasien dengan kondisi stres.
4. Digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi Stres

Stres merupakan respon tubuh terhadap yang disebut stressor. Stres akan terjadi karena adanya stressor, stressor dapat berupa 4 hal yaitu :

1. fisik atau somatik
2. psikhis atau emosional
3. sosiokultural
4. spritual religius

(Soenarjo, 1997)

Menurut *medicophysiological approach* (MA), stres merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam sehingga stres merupakan variabel tergantung. Berdasarkan pendekatan ini bahwa stressor tidak hanya terbatas pada stres psikis (Sulistyani, 2003).

Stres sebagai suatu respon non spesifik tubuh terhadap tuntutan lingkungan (Selye, 1974). Stres adalah penjumlahan reaksi-reaksi biologis terhadap berbagai stimulasi yang merugikan fisik, mental atau emosional, internal atau eksternal yang cenderung mengganggu homeostasis organisme tersebut; seandainya reaksi-reaksi kompensasinya tidak adekuat atau tidak tepat, stres dapat menimbulkan gangguan. Istilah ini digunakan untuk menunjuk pada rangsangan-rangsangan yang mendatangkan reaksi (Dorland, 1998). Stres merupakan istilah yang digunakan untuk menandai adanya reaksi psikologis yang mengancam homeostasis. Dapat dikatakan stres merupakan salah satu obyek atau faktor penyebab yang dapat memicu timbulnya infeksi (Haskel, 1990).

Penelitian Asnar (2001) menyebutkan bahwa stressor renjatan listrik akan menimbulkan stres pada individu. Stressor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respons imun yaitu melalui aksis otak-pituitari-adrenal. Individu yang mendapat stressor menahun akan mengalami penurunan fungsi

imun. Sehingga mengakibatkan individu tersebut lebih mudah terinfeksi atau timbul kerusakan akibat reaksi imunopatologi.

2.1.2 Mekanisme Stres

Respon yang diinduksi oleh stres menyebabkan perubahan perilaku dan dilanjutkan ke hipotalamus/pituitary/adrenal (HPA) untuk mendorong pelepasan *cortico trophic releasing hormone* (CRH) dari hipotalamus untuk melepaskan ACTH (*Adrenocorticotrophic hormone*), dan glukokortikoid dari korteks adrenal termasuk kortisol yang memiliki efek supresif utama melalui mekanisme yang sangat spesifik seperti pengurangan jumlah limfosit, monosit dan eosinofil dalam sirkulasi dan menghambat akumulasi eosinofil, makrofag, dan neutrofil pada daerah inflamasi. Glukokortikoid secara nyata dapat menghambat fungsi penting sel-sel inflamasi termasuk makrofag, neutrofil, eosinofil, sel-sel mast yang berfungsi sebagai kemotaksis, sekresi dan degranulasi. Selain itu dapat menghambat proliferasi limfosit seperti sel T-helper, sel T-sitotoksik, sel NK dan sel B pembentuk antibodi. Stres juga dapat mengatur fungsi endokrin yang menunjukkan kemampuan hormon seks sebagai imunomodulator yaitu androgen sebagai supresor dan estrogen sebagai stimulator. Jadi secara umum diketahui adanya hubungan interaksi antara faktor psikologi, imunologi dan endokrin lagi yang disebut psikoneuroimunologi (Selye, 1982)

2.2 Imunitas

Imunitas adalah keadaan kebal (imun) terhadap suatu infeksi atau efek patologik suatu substansi. Kekebalan (imunitas) itu merupakan daya ketahanan tubuh terhadap segala sesuatu yang asing bagi tubuh. Reaksi tubuh tersebut dinamakan reaksi imunologik dan respon imunologik (Mahar Mardjono, 1978)

Ada dua jenis sistem kekebalan yaitu :

1. Humoral
2. Seluler

Keduanya beraksi terhadap antigen, biasanya protein asing bagi tubuh seperti bakteri atau jaringan asing. Imunitas humoral merupakan imunitas karena antibodi bersirkulasi dalam, fraksi gamma globulin protein plasma. Ia merupakan

pertahanan utama terhadap infeksi bakteri. Imunitas seluler bertanggungjawab bagi reaksi alergi tertunda dan penolakan transplantasi jaringan asing. Ia membentuk pertahanan utama terhadap infeksi karena virus, jamur dan beberapa bakteri seperti basilus tuberkel (Ganong, 1982).

Sebagian besar dari imunitas disebabkan oleh suatu sistem imun khusus yang membentuk antibodi dan limfosit yang diaktifkan yang akan menyerang dan menghancurkan organisme atau toksin tertentu. Kekebalan semacam ini disebut *acquired immunity* (kekebalan buatan/kekebalan yang didapat). Ada suatu imunitas tambahan yang disebabkan oleh proses umum dan bukan disebabkan dari proses untuk melawan organisme penyebab penyakit yang spesifik. Kekebalan semacam ini disebut sebagai *innate immunity* (kekebalan bawaan) yang meliputi :

- a. Fagositosis yang dilakukan oleh sel darah putih dan sel pada sistem makrofag jaringan terhadap bakteri dan bahan penyebab penyakit lainnya.
- b. Pengrusakan oleh asam yang disekresikan oleh lambung dan oleh enzim pencernaan terhadap organisme yang tertelan ke dalam lambung
- c. Daya tahan kulit terhadap invasi organisme
- d. Adanya senyawa-senyawa kimia tertentu di dalam darah yang akan melekat pada organisme asing atau toksin dan akan menghancurkannya.

Imunitas bawaan ini membuat tubuh manusia tahan terhadap penyakit-penyakit (Guyton, 1986).

Sel-sel yang bertanggung jawab atas terjadinya reaksi imunologis adalah makrofag dan limfosit. Walaupun kedua jenis sel itu berasal dari sel-sel induk (stem cells) dalam sumsum tulang, sebagian besar makrofag dan limfosit berkembang biak di jaringan perifer. Setiap jenis sel, masing-masing mempunyai sifat dan fungsi yang penting baik sifat dan fungsi fisiologis maupun sifat dan fungsi diagnostik (Frances K.W, 1983)

Fungsi makrofag yang utama adalah fagositik terhadap benda asing. Didalam tubuh terdapat dua bentuk sel fagositik yaitu sel *polymorphonuclear* (PMN) dan *mononuclear* (makrofag) yang bekerja pada kondisi yang berbeda. PMN lebih efektif pada peradangan akut, sedangkan makrofag pada peradangan kronik. Makrofag merupakan pertahanan tubuh sekunder setelah pertahanan primer yang dilakukan oleh PMN (Bellanti, 1985).

2.3 Radang

Radang merupakan respons fisiologi lokal terhadap cedera jaringan. Radang bukan suatu penyakit. Radang dapat mempunyai pengaruh yang menguntungkan, seperti penghancuran mikroorganisme yang masuk dan pembuatan dinding pada rongga abses, sehingga akan mencegah penyebaran infeksi. Radang biasanya diklasifikasikan berdasarkan waktu kejadiannya, yaitu:

1. Radang akut : reaksi jaringan yang segera dan hanya dalam waktu tidak lama.
2. Radang kronis : reaksi jaringan selanjutnya yang diperlama mengikuti respons awal.

Dua jenis radang tersebut juga ditandai dengan jenis sel yang berbeda yang merupakan bagian dari respon radang (Underwood, 1999).

2.3.1 Mekanisme Radang

Pada saat tubuh terkena injuri, terdapat tanda-tanda klasik berupa pembengkakan, kemerahan, panas, nyeri, dan fungsi terganggu. Umumnya dikenal tiga stadium peradangan yaitu, akut, subakut dan kronis. Masing-masing ditegaskan dengan kriteria histologis yang khas. Akibat kemerahan disebabkan karena dilatasi pembuluh darah, pembengkakan (edema) karena masuknya cairan kedalam jaringan luka, dan kekakuan (induration) karena pengumpulan cairan dan sel-sel (Bellanti, 1993).

a. Radang Akut

Radang akut merupakan reaksi segera jaringan terhadap berbagai macam agen penyebab yang merugikan, dan dapat berakhir dalam beberapa jam sampai beberapa hari.

Pada radang akut biasanya terdapat:

1. Fase vaskular : dilatasi dan kenaikan permeabilitas
2. Fase eksudatif : cairan dan se-sel keluar dari venula yang permeabel.
3. PMN merupakan sel yang khas.
4. Gambaran fisik yang khas yaitu terdapat rubor, calor, tumor dan dolor.

(Underwood, 1999)

b. Radang Kronis

Istilah kronis digunakan untuk menjelaskan suatu proses yang telah berlangsung dalam waktu yang lama. Radang kronis mungkin dapat didefinisikan sebagai proses radang dimana limfosit, sel plasma dan makrofag lebih banyak ditemukan, dan biasanya disertai pembentukan jaringan granulasi yang menghasilkan fibrosis (Underwood, 1999).

2.3.2 Sel-Sel Radang

a. Limfosit

Pada keadaan normal pada hapusan berwarna limfosit berupa sel bulat kecil, dengan nukleus berlekuk yang terpulas gelap dan sedikit sitoplasma biru terang (Fawcett, 2002). Limfosit merupakan sel paling kecil, memiliki ukuran 7 – 8 µm. Limfosit memiliki inti bulat, gelap yang hampir memenuhi seluruh sel (Price dan Wilson, 1994).

Jumlah limfosit kira-kira 20 - 40 persen dari leukosit. Bentuknya seperti bola dengan diameter 6-8 mikron untuk limfosit kecil dan 12 mikron untuk limfosit sedang. Inti limfosit berbentuk seperti bola, mengandung kromatin berupa gumpalan-gumpalan kasar sehingga tampak gelap. Sitoplasmanya sedikit, agak biru muda. Terdapat dua jenis limfosit, yaitu limfosit T dan limfosit B. limfosit T bertanggung jawab dalam memberikan pertahanan seluler, sedangkan limfosit B bertanggung jawab dalam memberikan pertahanan humoral (Guyton, 1995).

Limfosit termasuk salah satu jenis leukosit yang merupakan unsur kunci kekebalan. Ia beraksi terhadap antigen, biasanya protein yang asing bagi tubuh seperti bakteri (Ganong, 1995). Limfosit tidak mencapai daerah peradangan pada stadium dini, tapi kemudian memainkan peranan penting, khususnya pada radang kronik dan penyakit granulomatosa, contohnya tuberculosis, sifilis (Thomson dan Cotton, 1997).

Menurut Kumar dan Clark (1990), sekitar 45% dari total leukosit adalah limfosit, yang terdiri dari :

1. Limfosit T (70% dari total limfosit).
2. Limfosit B (20% dari total limfosit).
3. Nul Sel (10% dari total limfosit)

Limfosit B ditentukan dalam sumsum tulang, folikel limfosit dan pulpa putih limpa, merupakan 10-20% limfosit darah perifer. Sel ini menggambarkan permukaan sel IgM dan IgD yang mengikat antigen, menghasilkan ekspansi klonalnya melalui proliferasi seperti Imunoblas B beberapa diantaranya mulai membentuk sel memori B, selebihnya berdeferensiasi menjadi sel plasma penghasil antibodi. Sel memori bertanggung jawab terhadap serangan cepat dari respons antibodi sekunder.

b. Neutrofil Polymorphonuclear (PMN)

Salah satu upaya untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen, misalnya antigen bakteri adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara non spesifik dengan fagositosis. Dalam hal ini salah satu leukosit yang berperan penting dalam fagositosis adalah *neutrofil polymorphonuclear*. Agar dapat terjadi fagositosis, sel-sel fagositosis harus berada dalam jarak yang dekat dengan partikel bakteri, atau lebih tepat lagi bahwa partikel tersebut harus melekat pada permukaan fagosit. Untuk mencapai hal ini maka fagosit harus bergerak kesasaran, hal ini dimaksudkan dengan dilepaskannya mediator tertentu atau faktor leukotaktik yang berasal dari bakteri maupun yang dilepaskan oleh neutrofil atau makrofag atau juga komplemen (Boedina, 1993).

Neutrofil dalam keadaan normal berdiameter 7 sampai 9 μm dan dalam hapusan darah kering 10-12 μm . Dalam darah manusia neutrofil berjumlah paling banyak dan merupakan 65 sampai 75 persen dari jumlah seluruh leukosit (Leeson, 1996). Dalam keadaan normal pada sediaan, sitoplasma neutrofil terlihat bertitik-titik oleh granul spesifik sangat halus yang berafinitas rendah terhadap pewarna dan granul azurofil lebih besar yang terpulas lebih gelap. Neutrofil mudah dikenali dari nukleusnya yang khas, terdiri atas dua lobi atau lebih yang saling berhubungan melalui benang tipis. Jumlah lobus nukleus ini tergantung dari usianya. Pertama kali dilepas dari sumsum tulang kedalam darah, nukleusnya berbentuk lonjong atau memanjang. Sel muda demikian disebut sebagai “bentuk batang”. Kemudian timbul konstiksi lokal, sehingga terbentuk nukleus bilobus. Proses pemanjangan nukleus serta konstiksinya

berlanjut pada neutrofil lebih tua, terdapat lima atau lebih segmen atau lobi (Fawcett, 2002).

Neutrofil merupakan sel-sel pertama yang timbul dalam jumlah besar didalam eksudat pada jam-jam pertama peradangan. Inti dari sel ini berlobus tidak teratur atau polimorf. Karena itu sel-sel ini disebut *neutrofil polimorphonuclear*, PMN atau “poli”. Sel-sel ini memiliki urutan perkembangan didalam sumsum tulang, perkembangan ini kira-kira memerlukan 2 minggu. Bila mereka dilepaskan kedalam sirkulasi darah, maka waktu-paruhnya dalam sirkulasi kira-kira 6 jam. Per millimeter kubik darah terdapat kira-kira 5000 netrofil, kira-kira 100 kali dari jumlah ini tertahan dalam sumsum tulang sebagai bentuk matang yang siap untuk dikeluarkan bila ada sinyal (Price, 1988).

c. *Mononuclear* (Makrofag)

Makrofag berasal dari sel pluripoten yang dalam darah berbentuk monosit. Monosit yang migrasi kedalam jaringan selanjutnya disebut sebagai makrofag (Schmidt Dalam Soehardjo, 1994). Dalam keadaan normal makrofag merupakan sel berbentuk tidak beraturan dengan cabang-cabang yang biasanya membulat (Djojopranoto, 1963). Makrofag dapat dibedakan dari fibroblas karena memiliki inti lebih kecil, lebih gelap dan sitoplasma lebih heterogen yang mengandung sejumlah vakuol dan granul padat kecil (Fawcett, 2002).

Makrofag berperan dalam mempertahankan jaringan normal dengan memakan sel mati dan debris sel dan benda renik lain dan memecahnya dengan enzim lisosomnya. Mereka juga merupakan pertahanan pertama terhadap infeksi, dengan lahap memakan dan menghancurkan bakteri yang masuk. Mereka juga partisipan yang harus ada pada pertahanan imunologis tubuh dengan memproses dan menyajikan antigen pada limfosit yang mampu menghasilkan antibodi protektif (Fawcett, 2002). Makrofag merupakan sel yang relatif besar dengan diameter sampai 30 μm , yang bergerak dalam jaringan dengan cara amuboid. Kehancuran PMN terjadi ketika mencerna mikroorganisme, karena jangka waktu hidup neutrofil terbatas, sekitar tiga hari. Makrofag dapat mencerna material yang lebih banyak jenisnya daripada PMN dan juga hidup lebih lama (Underwood, 1999).

Makrofag memegang peranan penting baik dalam memulai maupun meregulasi respon imun. Peranan makrofag dalam respon imun tersebut berkaitan erat dengan kapasitasnya memproduksi berbagai mediator setelah mengalami aktivitas (Bellanti, 1993) makrofag mampu memproduksi lebih dari 50 macam mediator yang merupakan bahan biologi aktif, (Stites dan Terr, 1991) substansi tersebut mencapai 100 macam.

Makrofag juga berfungsi sebagai regulator sistem imun, anti tumor dan penyembuhan luka dengan cara mengeliminasi imunogen secara selektif. Keberadaan makrofag pada kondisi peradangan sangat penting pada setiap derajat sesuai dengan kebutuhannya (Toppoll, 1989). Hal ini dikaitkan dengan dominasi kuman yang berbeda pada tiap derajat peradangan.

2.4 Renjatan Listrik

Renjatan listrik adalah suatu nyeri pada saraf sensoris yang diakibatkan aliran listrik yang mengalir secara tiba-tiba melalui tubuh (J.F Gabriel, 1988).

Renjatan listrik mempengaruhi fungsi sistem imun, selain dapat melalui jalur humoral dan cair tubuh juga dapat melalui saraf. Cair tubuh dapat meneruskan sinyal listrik karena cair tubuh merupakan volume konduktor yang baik (Guyton, 1996). Stressor renjatan listrik menyebabkan kondisi stres, sehingga terjadi peningkatan CRF hipotalamus, disamping melalui aksis HPA, CRF secara langsung melalui sirkulasi (humoral) sampai pada sel target (McCance, 1994 dalam Asnar 2001). Stressor renjatan listrik kemungkinan dapat dirambatkan melalui sistem saraf autonom, yaitu saraf parasimpatis dan simpatis. Susunan saraf otonom terutama diaktifkan oleh pusat-pusat yang lebih rendah dan dengan jalan ini mempengaruhi pengendalian otonom. Susunan saraf otonom sering bekerja melalui refleks otonom (Guyton, 1996).

Renjatan listrik dapat menimbulkan stres pada individu (Kort Basso; Kaplan, 1996 dalam Asnar 2001). Stressor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respons imun yaitu melalui aksis otak pituitari-adrenal. Individu yang mendapat stressor menahun akan mengalami penurunan fungsi

respons imun, sehingga mengakibatkan individu tersebut lebih mudah terinfeksi atau timbul kerusakan akibat reaksi imunopatologi.

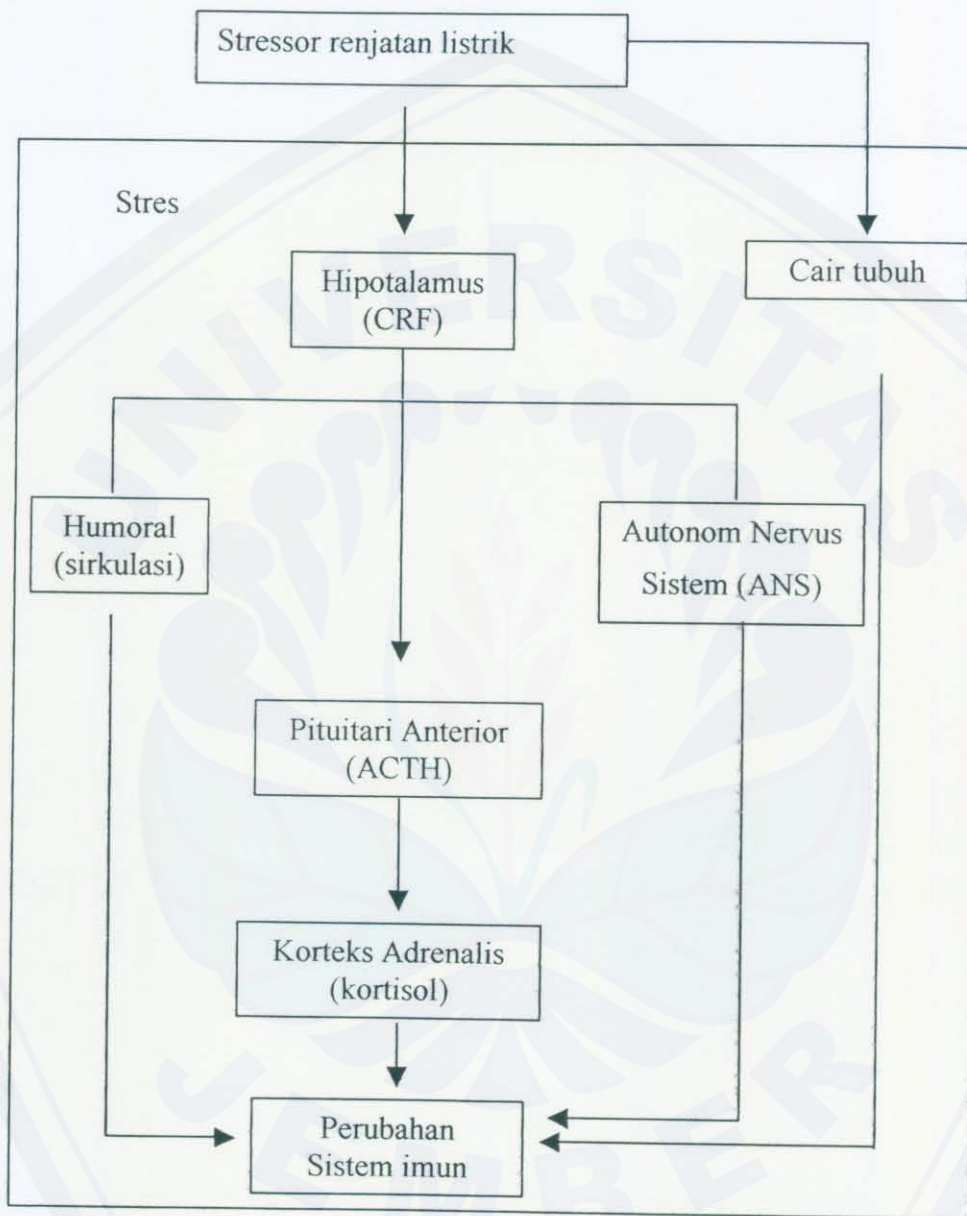
(Putra, 1999 dalam Asnar 2001).

Penelitian sumintarti, 1997 (Dalam Asnar 2001) menyatakan bahwa pemberian stressor listrik dengan “*electrical foot shock*” mempengaruhi peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah produksi glukokortikoid.

Menurut penelitian Keller pada tahun 1983, renjatan listrik pada mencit dapat mengakibatkan penurunan jumlah limfosit dalam darah. Penurunan jumlah limfosit ini disebabkan oleh pelepasan glukokortikoid yang dipicu oleh stres (Noto Soedirdjo, 1998).



Secara umum uraian di atas dapat dibagikan sebagai berikut :



Gambar 1. Jalur stressor renjatan listrik

Bagan di atas menunjukkan stressor renjatan listrik dapat mempengaruhi fungsi sistem imun selain melalui aksis HPA, juga melalui jalur humoral, cair tubuh dan sistem saraf autonom atau ANS (Asnar, 2001).

2.5 Luka Bakar

Luka bakar merupakan salah satu penyebab peradangan pada tubuh. Luka bakar merupakan trauma dan stres yang berkepanjangan. Periode awal segera setelah luka bakar, kepekaan terhadap infeksi meningkat. Hal ini disebabkan karena neutrofil-neutrofil yang seharusnya memfagositosa kuman-kuman terperangkap dalam kapiler. Pada luka bakar terjadi perubahan mikrosirkulasi kulit berbentuk edema. Trauma panas menghasilkan perubahan karakteristik pada daerah yang terbakar, yaitu zona dengan sel-sel yang mati sehingga sifatnya irreversible yang disebut zona koagulasi dan daerah paling luar yang memperlihatkan hyperemia dimana kerusakan sel sangat minim dan paling dini. Perbaikan disebut zona hiperemia (Winata, 1996)

Sel-sel dapat menahan temperatur sampai 44° tanpa kerusakan bermakna. Antara 44° dan 51°, kecepatan kerusakan jaringan berlipat ganda untuk tiap derajat kenaikan temperatur dan waktu yang terbatas yang dapat ditoleransi (Sabiston, 1995).

2.6 Hipotesis

Stressor rasa sakit renjatan listrik dapat menurunkan jumlah sel radang (limfosit, *neutrofil polymorphonuclear* dan Makrofag) pada tikus *Wistar* yang diberi luka bakar.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris menggunakan rancangan penelitian *Postest Only Control Group Design* (Notoatmojo, 2002).

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada di bagian Biomedik Laboratorium Fisiologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai November 2004.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel bebas

Sebagai variabel bebas digunakan stresor rasa sakit *electrical foot shock*.

3.2.2 Variabel Terikat

1. Jumlah PMN (*Neutrofil Polymorphonuclear*)
2. Jumlah Limfosit
3. Jumlah Makrofag

3.2.3 Variabel Terkendali

1. Makan dan minuman standar tikus (lampiran 1)
2. Cara pemeliharaan tikus
3. Luka bakar
4. Diameter luka bakar
5. Cara pemberian luka bakar
6. Prosedur penelitian



3.3 Definisi Operasional

1. Stressor rasa sakit "*Electrical foot shock*" yang menyebabkan sensasi nyeri. Paluan stressor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempengan seng di dasar kandang perlakuan. Arus listrik 5 mA, tegangan listrik yang diberikan adalah 25 V dan frekuensi 60 Hz (Asnar, 2001).
2. Luka bakar dalam penelitian ini menggunakan besi dengan diameter 1 cm yang dipanaskan selama 30 detik diatas bunsen kemudian disentuhkan ke punggung tikus yang sudah dicukur selama 5 detik.
3. Neutrofil Polimorfonuklear berukuran lebih besar dari limfosit kecil, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak dan agak kemerahan. Inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen yang dicat dengan cat hematoxilin eosin dan diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000X. (FKUI, 1996).
4. Makrofag merupakan sel berbentuk tidak beraturan dengan cabang-cabang yang biasanya membulat yang dicat dengan cat hematoxilin eosin dan diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000X (Djojopranoto, 1963).
5. Limfosit mempunyai inti besar, kasar, sferis, berwarna sangat gelap dan memiliki sitoplasma yang relatif sedikit yang dicat dengan cat hematoxilin eosin dan diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000X (Price, 1994).

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi Penelitian ini adalah tikus *Wistar* dengan jenis kelamin jantan.

3.4.2 Sampel

a. Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur *Wistar* dengan kriteria sebagai berikut :

1. Tikus *Strain Wistar* dengan jenis kelamin jantan
2. Tikus dengan berat badan 200 – 250 gram

3. Usia tikus 3 – 4 bulan
4. tikus dalam keadaan sehat

b. Besar sampel

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

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma_D^2}{\delta^2} \right]$$

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)
- σ_D^2 = diasumsikan $\sigma_D^2 = 2 \delta^2$
- α = Tingkat signifikan (0,20)
- P = Prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,80)
- P = 1 – β
- B = 0,20

Berdasarkan perhitungan (lampiran 2) rumus besar sampel diatas, diperoleh besar sampel minimal = 8. (Steel dan Torrie, 1995).

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Kandang tikus
2. Alat stressor “*Electrical Foot Shock*”
3. Timbangan untuk mengukur berat tikus
4. Tempat makan dan minum tikus
5. Pisau Scalpel
6. Pinset
7. Sarung tangan

8. Bunsen
9. Besi dengan diameter 1 cm
10. Tabung fiksasi
11. Mikrotom
12. Peralatan pembuatan preparat
13. Kaca objek
14. Mikroskop cahaya Binokuler

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Makanan standar tikus yang beredar dipasaran yaitu jenis konsentrat produksi Feedmill Malindo, Gresik.
2. Jaringan luka bakar
3. Bahan fiksasi (formalin 10 %)
4. Alkohol 96 %, 95 % dan 80 %
5. Parafin
6. Xylol
7. Cat Haematoxlin eosin (HE)
8. Minyak emersi

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

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

3.6.2 Tahap pengelompokan Subjek

1. Sampel terdiri dari 2 kelompok, jumlah masing-masing kelompok 8 ekor tikus sesuai dengan besar sampel dan diadaptasikan pada lingkungan yang sama selama 7 hari.

2. Kelompok I sebagai kelompok kontrol tikus yang diberi luka bakar dan kelompok II sebagai kelompok perlakuan diberi luka bakar dan stressor renjatan listrik (Baker, 1980).

3.6.3 Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba

1. Hewan coba tikus dengan berat 200-250 gram dibagi mejadi 2 kelompok. Kelompok I adalah kelompok kontrol, sedangkan kelompok II adalah kelompok perlakuan.
2. Kelompok perlakuan selanjutnya diberi stressor renjatan listrik *electrical foot shock* dengan arus listrik 5 mA, tegangan 25 V dan frekuensi 60 Hz.

Jumlah 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 rejatan - 2 sesi, hari kedua diberikan 8 renjatan – 2 sesi bukannya 6 renjatan – 2 sesi, karena peningkatan sebanyak 2 renjatan x 2 sesi untuk hari ke 2 dianggap terlalu kecil. Hari ke 3 dan seterusnya, peningkatan cukup besar dimaksudkan agar stressor tidak dapat atau tidak mudah diadaptasi.

3. Pada hari ketujuh kedua kelompok dicukur bulunya pada punggung dengan diameter 10 mm. Untuk membuat jaringan luka bakarnya digunakan besi panas yang berdiameter 1 cm disentuhkan pada bagian yang sudah dicukur selama ± 5 detik. Kemudian pada hari ke delapan diambil jaringan luka bakarnya.

3.6.4 Tahap Pengambilan Jaringan

Hewan coba tikus dikorbankan dengan dilakukan anestesi menggunakan eter dengan sistem inhalasi, kemudian dilakukan pemotongan jaringan luka bakar dengan pisau scalpel.

3.6.5 Pembuatan Sediaan

Tahap pembuatan sediaan ada di lampiran 3.

3.6.6 Pengecatan

Tahap pengecatan ada dilampiran 4.

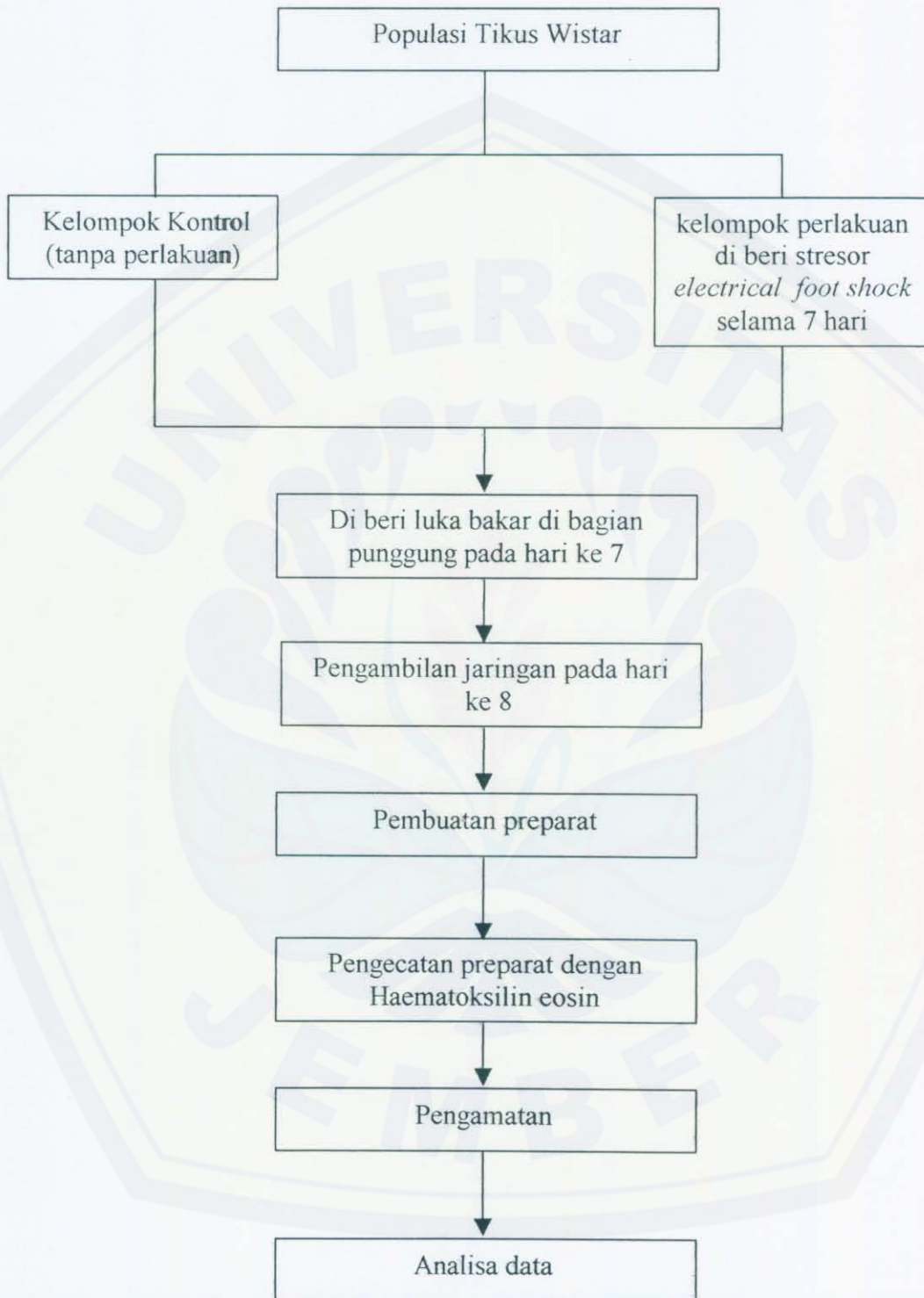
3.7 Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan mikroskop binokuler pada tiap preparat yang terdiri dari tiga irisan sampel dan diamati dengan perbesaran 1000 X. masing-masing sampel dipilih tiga lapangan pandang, dan dihitung jumlah PMN (neutrofil polymorphonuclear), makrofag dan limfosit, kemudian hasil penghitungan ditabulasi dan dirata - rata.

3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh didapat kemudian ditabulasi dengan menggunakan metode statistik parametrik *uji T – test dua sampel* untuk membandingkan antara kedua datanya ($p \leq 0,05$) (Riduwan, 2003).

3.9 Alur Penelitian



IV. HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan November 2004. Jumlah sampel sebanyak 8 ekor tikus putih yang diberi stresor renjatan listrik dan luka bakar pada punggung dan 8 ekor tikus putih yang hanya diberi luka bakar sebagai kelompok kontrol.

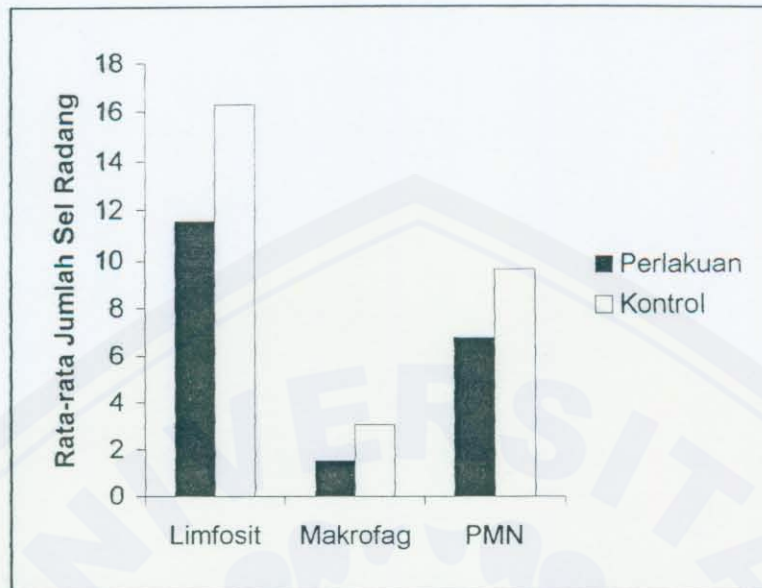
Data hasil pengamatan histologi rata-rata jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag berdasarkan penilaian secara kuantitatif adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Rata – Rata Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol

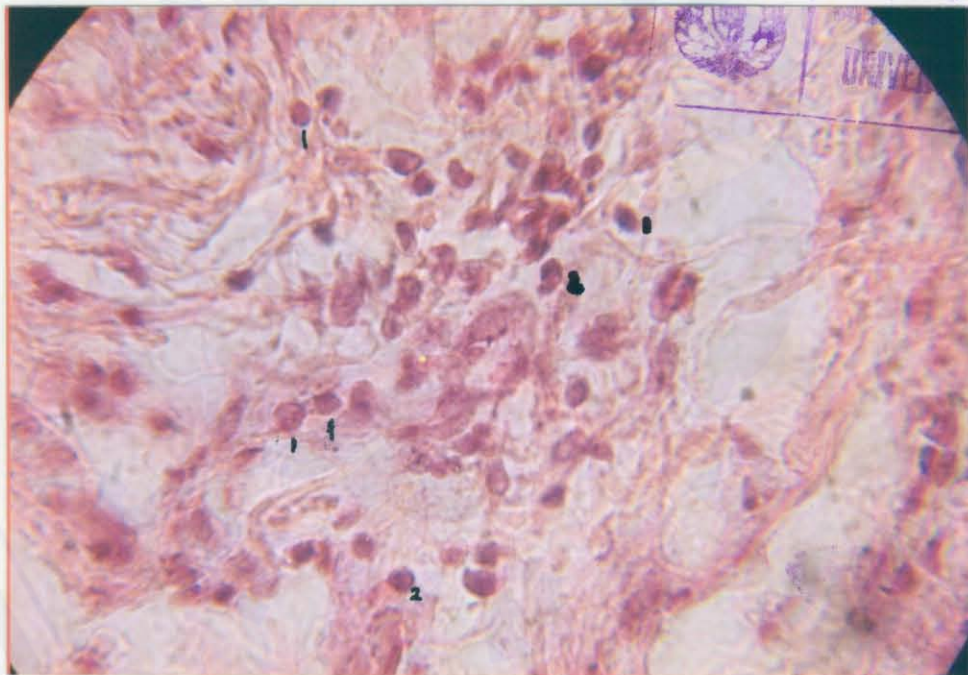
Sample	Rata-rata Perlakuan			Rata-rata kontrol		
	Limfosit	PMN	Makrofag	Limfosit	PMN	Makrofag
1	11,45	6,45	1,33	12,22	10,67	4,67
2	10,56	8,56	1,67	17,22	9,44	3,33
3	9,67	5,22	1,67	17,33	10,67	2,67
4	8,11	4,11	1,33	17,78	10,34	3,67
5	13,33	8,44	1,67	18,11	11,44	4
6	15,00	7,67	1,33	19,11	8,11	2,67
7	11,22	5,78	1,67	13,89	8,33	2,33
8	13,11	7,78	1,67	13,78	7,89	3,67
Jumlah	92,45	54,01	12,34	130,11	76,89	24,61
Rata ²	11,56	6,75	1,54	16,26	9,61	3,07

Dari tabel diatas terlihat bahwa jumlah limfosit, PMN dan makrofag yang diberi stressor renjatan listrik lebih sedikit daripada yang tidak diberi stressor renjatan listrik. Hal ini tampak dari besarnya skor pada kelompok perlakuan lebih kecil daripada kelompok kontrol, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 2.





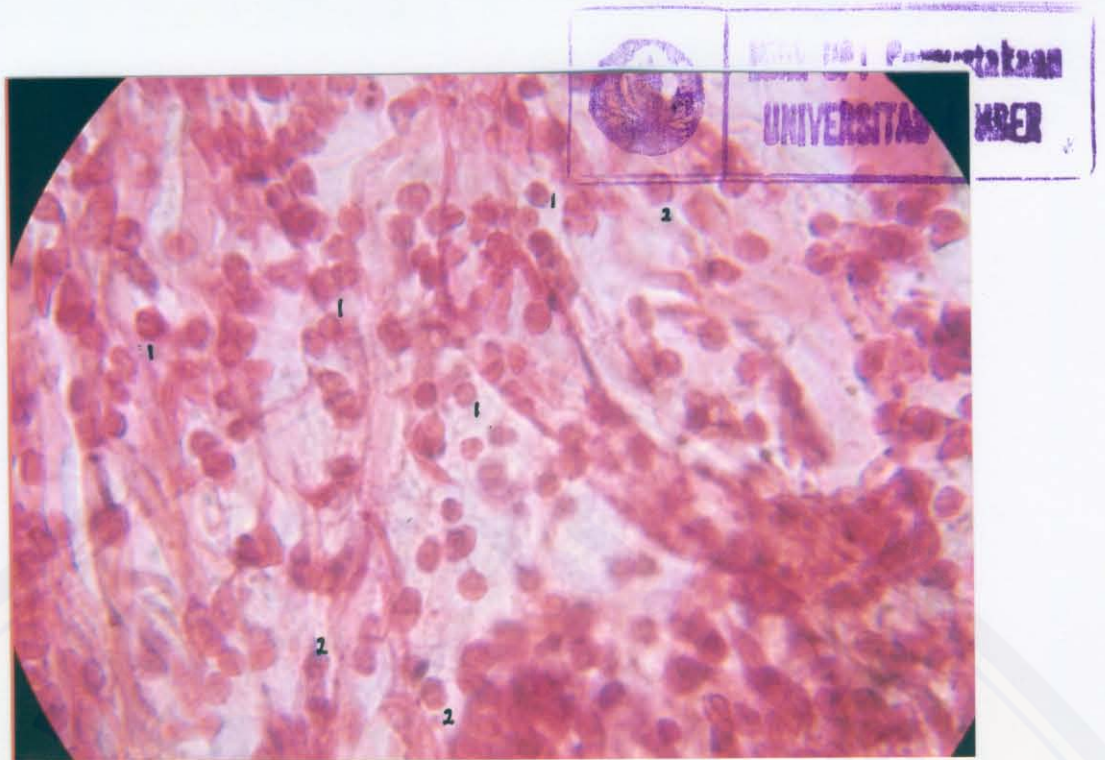
Gambar 2. Histogram Rata-rata Jumlah Sel Radang pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol.



Gambar 3. Gambaran Mikroskopis Limfosit dan PMN pada Kelompok Perlakuan dengan Perbesaran 1000x dan Pewarnaan HE.

Keterangan gambar :

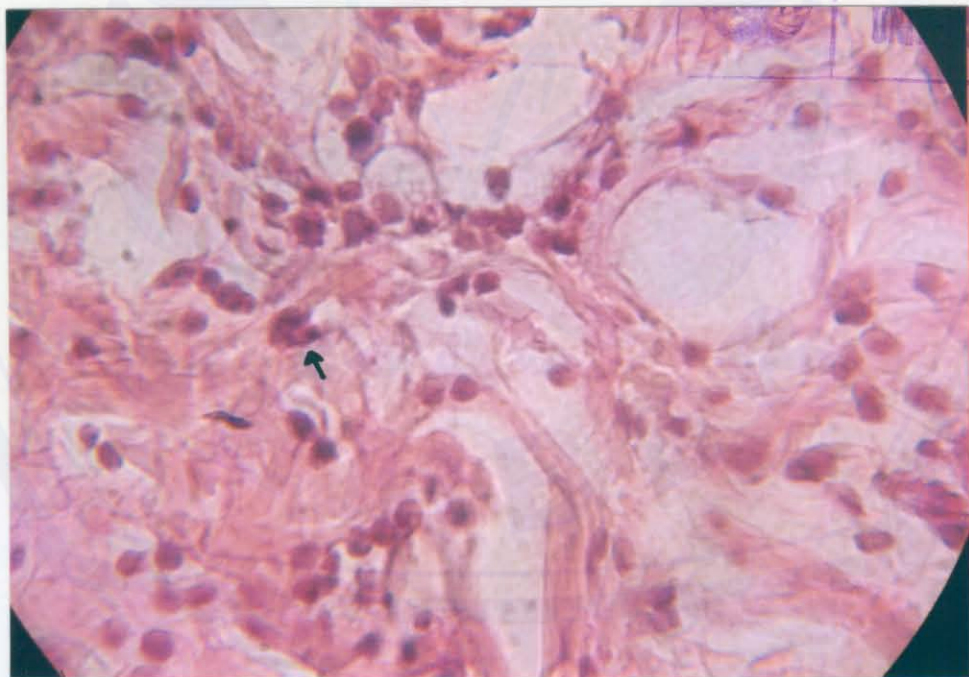
1. Limfosit
2. PMN



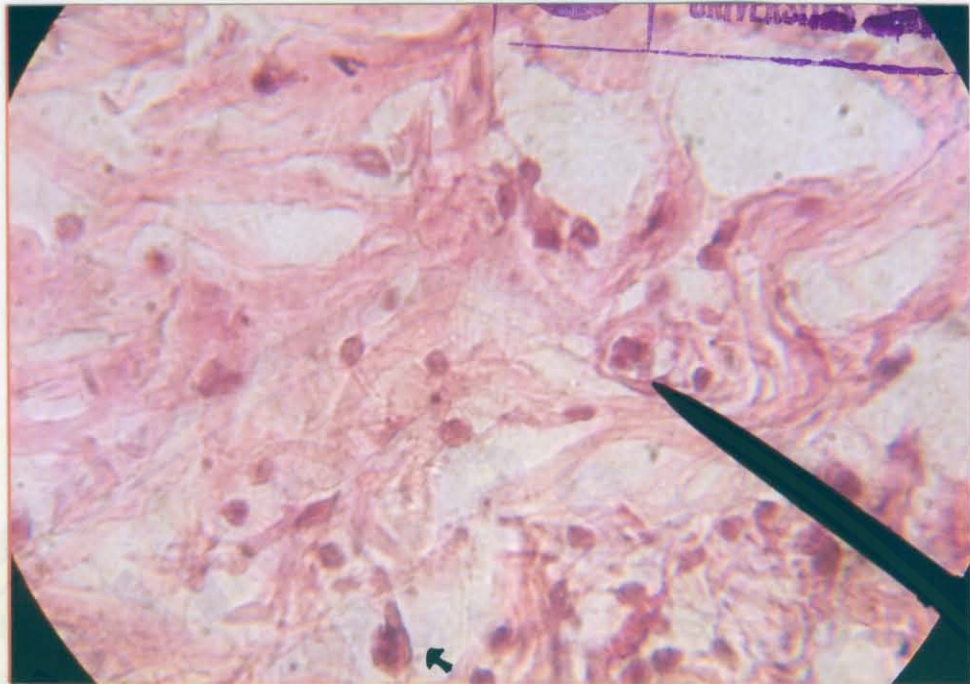
Gambar 4. Gambaran Mikroskopis Limfosit dan PMN pada Kelompok Kontrol dengan perbesaran 1000x dan Pewarnaan HE

Keterangan Gambar :

1. Limfosit
2. PMN



Gb 5. Gambaran Mikroskopis Makrofag pada Kelompok Perlakuan dengan Perbesaran 1000x dengan Pewarnaan HE



Gambar 6. Gambaran Mikroskopis Makrofag pada Kelompok Kontrol dengan Perbesaran 1000x dan Pewarnaan HE.

Dari gambar 3 dan 4 tersebut, akan lebih tampak perbedaannya ketika dihitung dibawah mikroskop dengan lensa gratikule yang masing – masing sampel dipilih tiga lapangan pandang. Pada gambar makrofag antara kelompok kontrol dan perlakuan tidak dapat terlihat perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan karena pada pengamatan makrofag dengan melihat pada seluruh sediaan dibawah mikroskop.

JEMBER

Hasil Uji Homogenitas Varians Ketahanan Perlakuan dan Kelangkaan Kontak jentak Limfosit, PMN dan Makrofag

	F	df1	df2	sig.
Limfosit	0.256	14	14	0.745
PMN	0.07	14	14	0.796
Makrofag*	10.191	14	14	0.007

*Kecuali

F = F hitung

df = df hitung

df = df tabel

sig. = signifikansi

parametrik untuk menguji apakah rata – rata kedua kelompok sampel tersebut berbeda bermakna atau tidak berbeda bermakna dengan taraf kepercayaan 95 %.

Tabel 4. Hasil Uji Independent T – Test pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag

	t	df	Sig.
Limfosit	3.947	14	0.001
PMN	4.550	14	0.000
Makrofag	6.448	14	0.000

Pada t hitung untuk rata – rata jumlah limfosit adalah 3,947 dengan $p = 0,001$ ($p < 0,05$), berarti rata – rata (mean) jumlah sel berbeda, dalam artian jumlah sel perlakuan lebih sedikit daripada kelompok kontrol. T hitung untuk PMN adalah 4,550 dengan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$) dan makrofag 6,448 dengan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$). Karena nilai probabilitas antara limfosit, PMN dan makrofag $< 0,05$ ($p < 0,05$) maka ketiganya dinyatakan berbeda secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.



V. PEMBAHASAN

Penelitian secara eksperimental laboratoris yang dilakukan di Bagian Biomedik Laboratorium Fisiologi dan Histologi FKG UNEJ dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag pada jaringan sekitar luka bakar tikus putih yang diberi stressor rasa sakit “*electrical foot shock*” dengan tikus putih yang tidak diberi stresor. Sampel sebanyak 8 ekor tikus putih yang diberi stressor rasa sakit dan 8 ekor tikus putih yang tidak diberi stressor rasa sakit. Semua sampel diberi luka bakar pada punggung yang bertujuan untuk memicu proses peradangan. Pemberian stressor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempengan kuningan di dasar kandang perlakuan. Besar arus listrik yang diberikan adalah 5mA, 25 V dan frekuensi 60 Hz. Jumlah pemberian renjatan listrik berpedoman pada penelitian Sumintarti (1997) dalam Asnar 2001 selama 7 hari, kemudian dibuat sediaan yang kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x pada tiga lapangan pandang. Pengambilan jaringan luka bakar dilakukan 24 jam setelah perlakuan, dimaksudkan agar sel-sel radang sudah terdapat pada jaringan luka.

Setelah dilakukan pengamatan, didapatkan perbedaan yang bermakna pada jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag antara kelompok tikus putih yang diberi stressor dan kelompok tikus putih yang tidak diberi stressor. Setelah dilakukan uji statistik dengan independent t-test. Jumlah Limfosit, PMN, dan Makrofag pada kelompok perlakuan lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah limfosit, PMN, dan makrofag pada kelompok kontrol (tabel 1).

Respon yang diinduksi oleh stressor menyebabkan meningkatnya sekresi suatu molekul sinyal *corticotropin releasing factor* (CRF), suatu senyawa yang sekaligus berfungsi sebagai neurotransmitter dan sebagai hormon (neurohormon). Hantaran sinyal oleh stressor mengaktivasi sistem syaraf simpatik dan menghasilkan gejala seperti peningkatan tekanan darah, pernafasan dan detak jantung. Hantaran sinyal dapat pula terjadi melalui 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 *pro-opiomelanocortin* (POMC). Pengolahan pasca translasi POMC akan menghasilkan sejumlah polipeptida antara lain *Adrenocorticotropic stimulating hormon* (ACTH). ACTH melalui peredaran akan mencapai kelenjar adrenal dan memicu sekresi hormon kortikosteroid oleh sel kortek adrenal (Sulistiyani, 2003). ACTH dan glukokortikoid yang memiliki efek supresif utama melalui mekanisme yang sangat spesifik seperti pengurangan jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag pada daerah inflamasi. Glukokortikoid secara nyata dapat menghambat fungsi penting sel inflamasi termasuk makrofag, neutrofil, sel – sel yang berfungsi sebagai kemotaksis, sekresi dan degranulasi. Selain itu dapat menghambat proliferasi limfosit (Selye 1982 dalam Tarmidi 1999).

Bila jaringan rusak akibat trauma maka jaringan itu akan meradang. Adanya kortisol dalam jumlah besar dapat menghambat proses inflamasi. Kortisol menurunkan permeabilitas kapiler, mungkin sebagai efek sekunder dari pelepasan enzim proteolitik. Hal ini mencegah terjadinya kehilangan plasma ke dalam jaringan. Kortisol menurunkan migrasi sel darah putih ke dalam daerah inflamasi dan fagositosis dari sel rusak. Efek ini mungkin dihasilkan dari kenyataan bahwa kortisol menghilangkan pembentukan prostaglandin dan leukotrien yang kalau tidak akan meningkatkan vasodilatasi permeabilitas kapiler, dan mobilitas sel darah putih. Kortisol menekan sistem imun menyebabkan reproduksi limfosit menurun dengan nyata, terutama limfosit-T (Guyton, 1997).

Mekanisme bagaimana kortikosteroid dapat menekan respon imun dapat dijelaskan sebagai berikut. Pertama adalah aktivitas kortikosteroid dalam hal ini dirusaknya fungsi dari transkripsi *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yang merupakan pengatur dari gen untuk beberapa sitokin dan *cell adhesion molecul*. Kortikosteroid melekat secara langsung ke NF- κ B sehingga tidak dapat masuk ke nukleus. Selain itu pada sel yang tidak terpapar oleh kortikosteroid dalam sitoplasma NF- κ B terikat dengan *second protein* yang disebut I κ Ba, dengan reaksi tertentu akan terjadi pelepasan NF- κ B, yang kemudian masuk ke dalam nukleus dan terjadi aktivasi gen sehingga terbentuk berbagai sitokin. Dengan

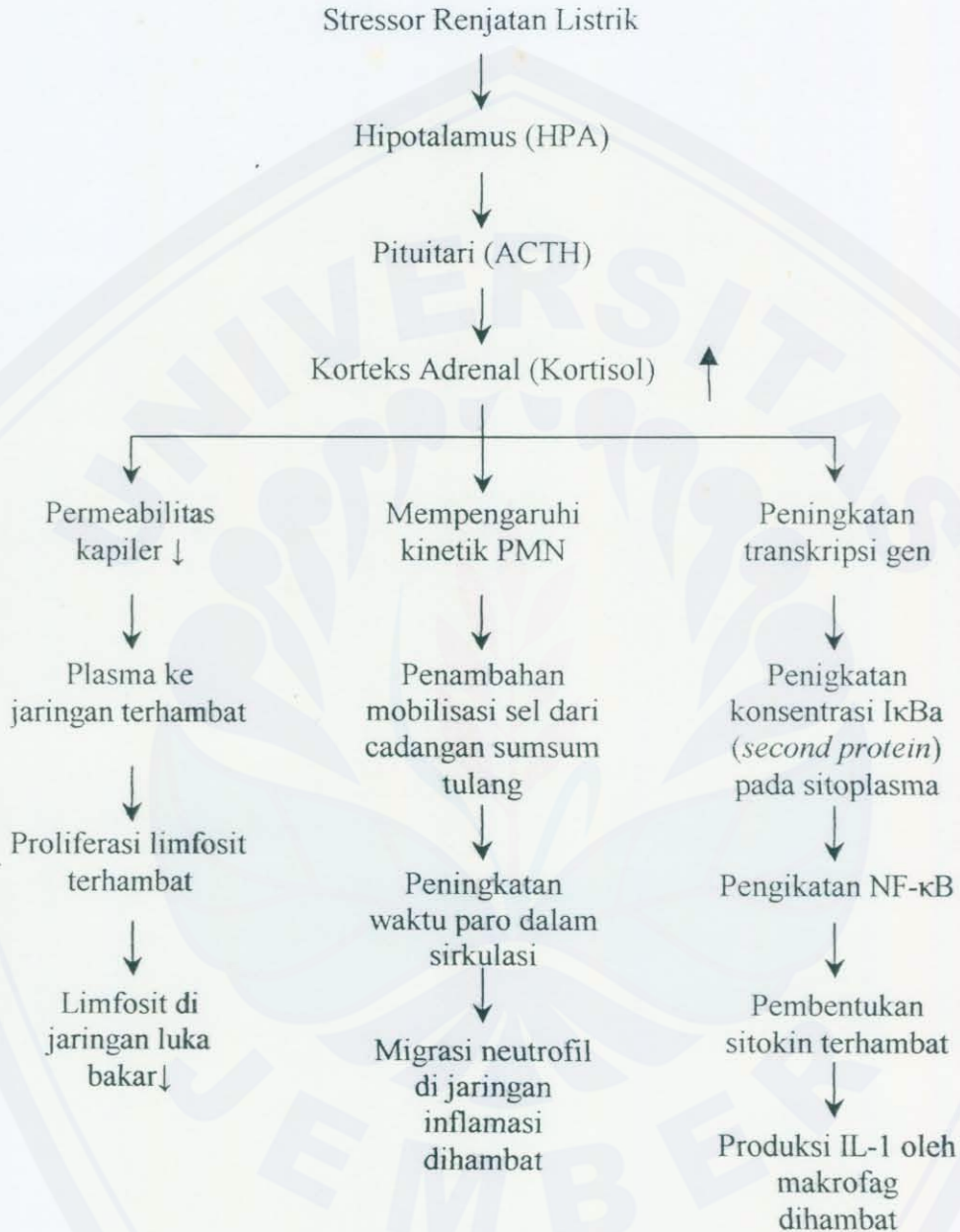
adanya kortikosteroid akan terjadi peningkatan transkripsi gen yang mengontrol I κ Ba, sehingga terjadi peningkatan konsentrasi I κ Ba pada sitoplasma, hal ini menyebabkan pengikatan pada NF – κ B sehingga tidak mampu masuk ke dalam nukleus akibatnya tidak terbentuk sitoksin. Sehingga produksi IL – 1 oleh Makrofag dihambat (Harijanti, 2003).

Kortikosteroid mempengaruhi kinetik neutrofil (PMN) dengan menambah mobilisasi sel dari cadangan sumsum tulang, dengan memperpanjang waktu paro neutrofil dalam sirkulasi dan dengan pengurangan migrasi neutrofil ke dalam tempat inflamasi (Bellanti, 1993).

Pada penelitian Suryadhana (1997) dengan menggunakan parameter nilai tingkatan migrasi neutrofil, dapat membedakan tingkatan stres yang terjadi. Situasi yang mencekam terjadi menjelang ujian telah menghambat migrasi neutrofil ke dalam mulut. Faktor yang mengendalikan semua ini adalah sistem syaraf autonom. Sistem syaraf ini amat responsif terhadap stressor dengan melepaskan kortisteroid yang pada akhirnya mempengaruhi sistem imun. Akibatnya terjadi penurunan jumlah limfosit, juga sel-sel lain yang beredar seperti mastosit, neutrofil, makrofag dan basofil. Jadi sistem imun memperantari efek stres dan timbulnya berbagai perubahan fisiologik.

Dari uraian tersebut diatas dapat diketahui bahwa stres dapat menurunkan jumlah limfosit, PMN dan makrofag. Pada penelitian ini perubahan tersebut terjadi kemungkinan karena adanya stres yang diakibatkan oleh stressor renjatan listrik yang dihantarkan melalui hipotalamus dimana CRF disekresikan menyebabkan peningkatan sekresi ACTH, dalam beberapa menit kortiso dalam darah juga akan meningkat. Peningkatan kortisol ini menghambat proses peradangan atau menyebabkan penurunan migrasi sel radang ke jaringan sekitar luka bakar. Mekanisme tersebut dapat digambarkan pada gambar 7.

Gambar 7. Diagram Pengaruh Stressor Renjatan Listrik Terhadap Jumlah Limfosit, PMN dan Makrofag



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa adanya stressor rasa sakit "electrical foot shock" dapat menghambat terjadinya proses peradangan pada jaringan sekitar luka bakar pada punggung tikus dengan tampak adanya penurunan jumlah sel limfosit, PMN (*neutrofil polymorphonuclear*) dan makrofag pada jaringan sekitar luka bakar tikus yang terpapar stressor rasa sakit daripada yang tidak terpapar. Hal ini disebabkan karena stressor rasa sakit yang dihantarkan melalui saraf simpatis merangsang sekresi kortisol yang dapat menghambat kerja sel – sel radang pada jaringan sekitar luka bakar.

6.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan :

1. Dengan diketahuinya stressor dapat menghambat kerja sistem imun maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah stres dapat menimbulkan suatu penyakit yang lebih parah.
2. Dengan diketahuinya stressor rasa sakit dapat memperparah suatu penyakit maka perlu perhatian khususnya dalam menangani pasien dalam kondisi stres.
3. Dengan diketahuinya stres dapat memperparah suatu penyakit maka kita perlu mencegah terjadinya kondisi stres pada pasien saat perawatan di klinik kedokteran gigi.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan stressor yang lain untuk mengetahui stressor apa saja yang dapat menyebabkan gangguan sistem imun.



DAFTAR PUSTAKA

- Asnar, E.T.P. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respons Imun Mukosal Tikus Yang Stress Akibat Stressor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi*. Disertasi Program Doktor Program Pascasarjana. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Atkinson, L.R, Atkinson, C.R dan Hilgard, E.1999. *Pengantar Psikologi*. Alih Bahasa : Nurdjannah dari *Introduction to Psychology*. Edisi 8. Jakarta : Erlangga.
- Bellanti JA. 1993. *Immunologi III*, Penerjemah /; Samik wahab, Judul asli : "*Immunology III*". Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Boedina, S.K. 1993. *Imunologi: Diagnosis Dari Prosedur Laboratorium*. Edisi 3. Jakarta: FKUI.
- Cheng GJ, Morrow-Tesch JL, Beller DI, Levy EM, and Black PH. 1990. *Immunosuppression in Mice Induced by Cold Water Stress*. Brain Behav Immun.
- Dorland, 1998. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Editor: Dyah Niswantari. Judul Asli: "*Dorland's Pocket Medical Dictionary*". Jakarta: EGC.
- Fawcett, Don. W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 12. Alih Bahasa : Tambayong. Dari *Textbook of Histology*, 12/E. Jakarta: EGC.
- Frances K.W. 1983. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Gabriel J.F. 1988. *Fisika Kedokteran*. Departemen Fisika Universitas Udayana Denpasar – Bali: EGC.
- Ganong. W.F. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 14. Terjemahan: Petrus Andrianto dari "*Review of Medical Physiology*" (1995). Jakarta: EGC.
- Guyton A.C. 1995. *Buku Teks Fisiologi Kedokteran*. Edisi V. Bagian 1. Terjemahan: Adhi Darma dari *Textbook of Medical Physiology* (1994). Jakarta: EGC.
- Guyton A.C. 1986. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 7. Bagian 1. 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 Physiologi*. Jakarta : EGC.
- Harijanti, K, Mintarsih dan M Jusri. 2003. *Mekanisme Kerja Kortikosteroid pada Mukositis Rongga Mulut*. Dalam Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal). Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III. Surabaya : FKG UNAIR
- Haskel, Gayford. 1990. *Penyakit Mulut*. Editor : Lilian Yowono. Jakarta : EGC.
- Hawari, Dadang. 1996. *Al Qur'an : Ilmu Kedokteran Jiwa dan Kesehatan Jiwa*. Jakarta : Dana Bhakti Prima Yasa.
- Keller SE, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, and Stein M. 1983. *Stress-Induced Suppression of Immunity in Adrenalectomized Rats*. Science.
- Kumar, J.P dan Michael L.C. 1990. *Clinical Medicine*. Edisi 2. London: Ballierre Tindal.
- Lee, G.R. 1999. *Wintrobe Clinical Hematology*. Vol 1. USA: Williams and Walkins Maryland.
- Lesson, c. Roland. Thomson S. Leeson dan Anthony A Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Terjemahan Staf Ahli Histologi FKUI Dari "Textbook of Histology" (1985). Edisi 5. Jakarta: EGC.
- Mahar, Mardjono; Priguna Sidharta. 1988. *Neurologi Klinis Dasar*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisi. Jakarta : Rineka Pustaka.
- Priandini, D dan G.P Subita. 1999. *Pengaruh Faktor Psikogenik Sebagai Penyebab Sindroma Mulut Terbakar*. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran (Dental Journal) Edisi Lhusus Forum Ilmiah VI 1999. Vol 2. Jakarta : FKG USAKTI.
- Price, Sylvia Anderson and Wilson, L. Mc Carty. 1986. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit*. Terjemahan: Adji Dharmas: "Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes (1982). Edisi 2. Jakarta: EGC.
- Putra, St. 1999. *Perkembangan Paradigma dan Konsep Psiconeuroimunologi*. Surabaya: Makalah Workshop Psiconeuroimunologi Gramik. FK UNAIR.

- Riduwan.2003. *Dasar-dasar Statistik*. Bandung: Alfa-Beta.
- Sabiston, David C. 1995. *Buku Ajar Bedah*. Alih Bahasa: Petrus Andrianto. Judul Asli: “*Sabiston's Essentials Surgery*”. Jakarta: EGC.
- Soekamto, Soengeng. 1996. *Tekhnik Pengecatan Praktis*. Surabaya : UNAIR
- Soehardjo, Istianti. 1994. *Peranan Makrofag dalam Imunopatologik Gingivitis Kronik dan Interasinya dengan Sel-Sel Imunokompeten Lain*. Kumpulan Makalah KPPIKG X. Surabaya: FKG UNAIR.
- Selye, H.1982. *Handbook Of Stress. Theoretical and Clinical Aspects*. L. Goldberger dan S. Breznits (editor). A division of Macmillan Co, Inc., New York.
- Sobota – Hammersen. 1993. *Histologi: Atlas Berwarna Anatomi Mikroskopik*. Edisi 3. Alih Bahasa: Petrus Andrianto, Judul Asli: “*Histology: Color atlas of Microscope Anatomi*”(1985). Jakarta: EGC.
- Soenarjo, Prof.dr. 1997. *Stres dan Cara Mengatasinya*. Jember: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI Universitas Jember.
- Sulistiyani, Erna. 2003. *Mekanisme Eksaserbasi Recurrent Aphthous Stomatitis Yang dipicu Oleh Stresor Psikologis*. Majalah Kedokteran Gigi dental Journal. Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III. 6 – 9 Agustus 2003. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi UNAIR.
- Steel, Robert G.D dan H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi kedua. Alih Bahasa : Bambang Sumantri. Judul asli: “*Principles and Prosedures of Statistic, 1996*”. Jakarta : PT.Gramedia Pustaka Utama.
- Stites DP, Terr AL. 1991. *Basic Human Immunology*. Ed. 1. Prentice Hall Int. Inc.
- Sumintarti. 1997. *Pengaruh Asap Rokok dan Stres Terhadap Respons Imun Mencit Penelitian Eksperimental Laboratorium*. Disertasi Program Pascasarjana. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Tarmidi, Metawati. 1999. *Liken Planus Rongga Mulut Dengan Faktor Predisposisi Psikososial Kronis (Laporan Kasus)*. Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi. FKG USAKTI. Edisi Khusus FORIL VI.
- Topoll HH, Zwaldo G, lange DE, Sorg C. 1989. *Phenotypic Dynamics of Macrophage Subpopulations During Human Experimental Gingivitis*. Jurnal Periodontal. 1989.

Underwood, J.C.E.1999. *Patologi Umum dan Sistemik*. Edisi 2. Terjemahan :
Soerjadi. Judul Asli: "*General and Systemic Pathology*". Jakarta: EGC.

Winata, Cornel Prawira. 1996. *Dasar-Dasar Dalam Luka Bakar*. Jakarta: IDI.

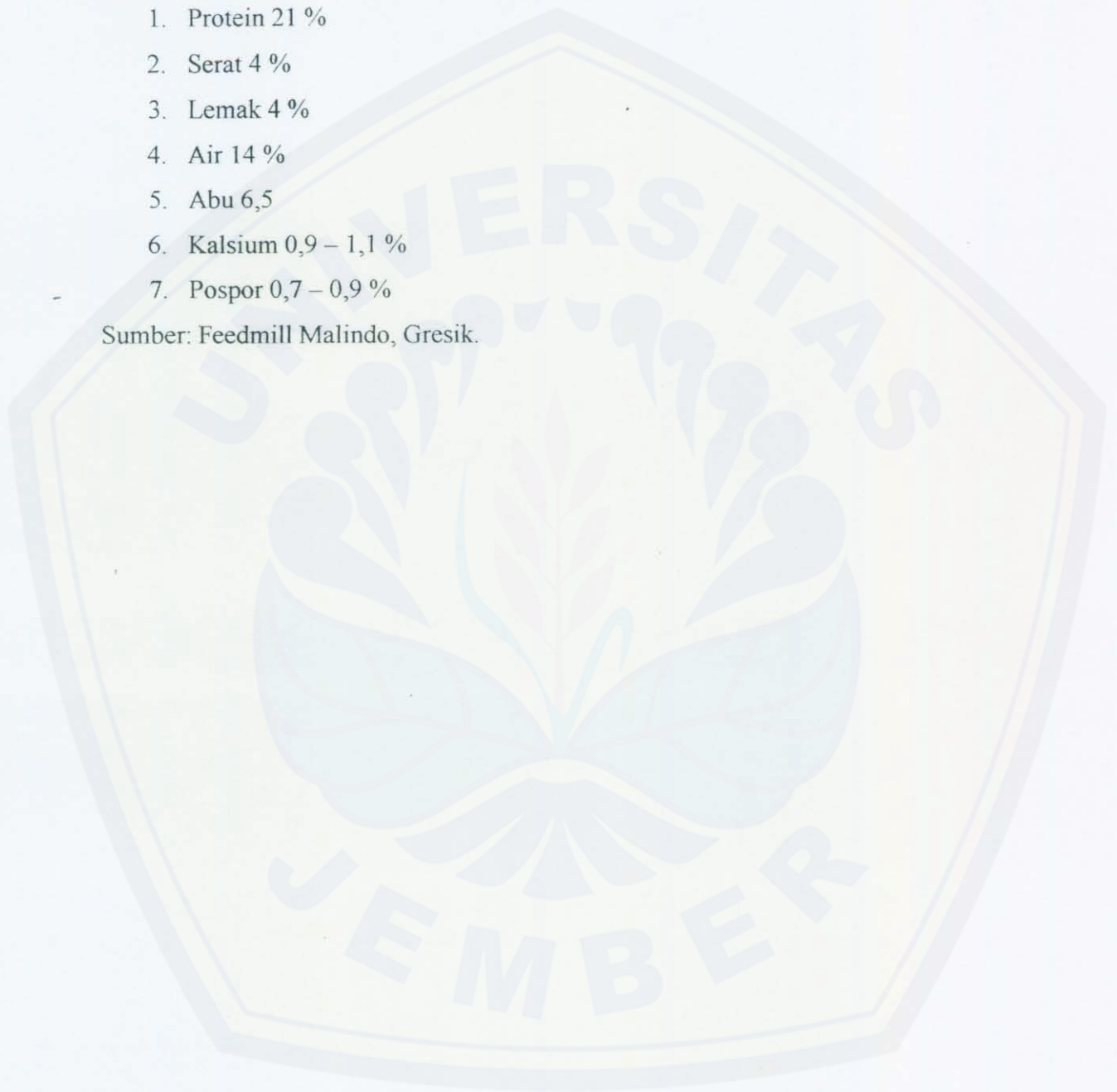


Lampiran 1. Makanan Standar Tikus

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 2.**Penghitungan Besar Sampel**

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini berdasar rumus sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma_D^2}{\delta^2} \right]$$

n = Besar sampel minimal

$$\alpha = 0,025$$

$$\beta = 0,20$$

Berdasar tabel diperoleh

$$Z\alpha = 1,96$$

$$Z\beta = 0,85$$

Maka hasil penghitungan besar sampel sebagai berikut:

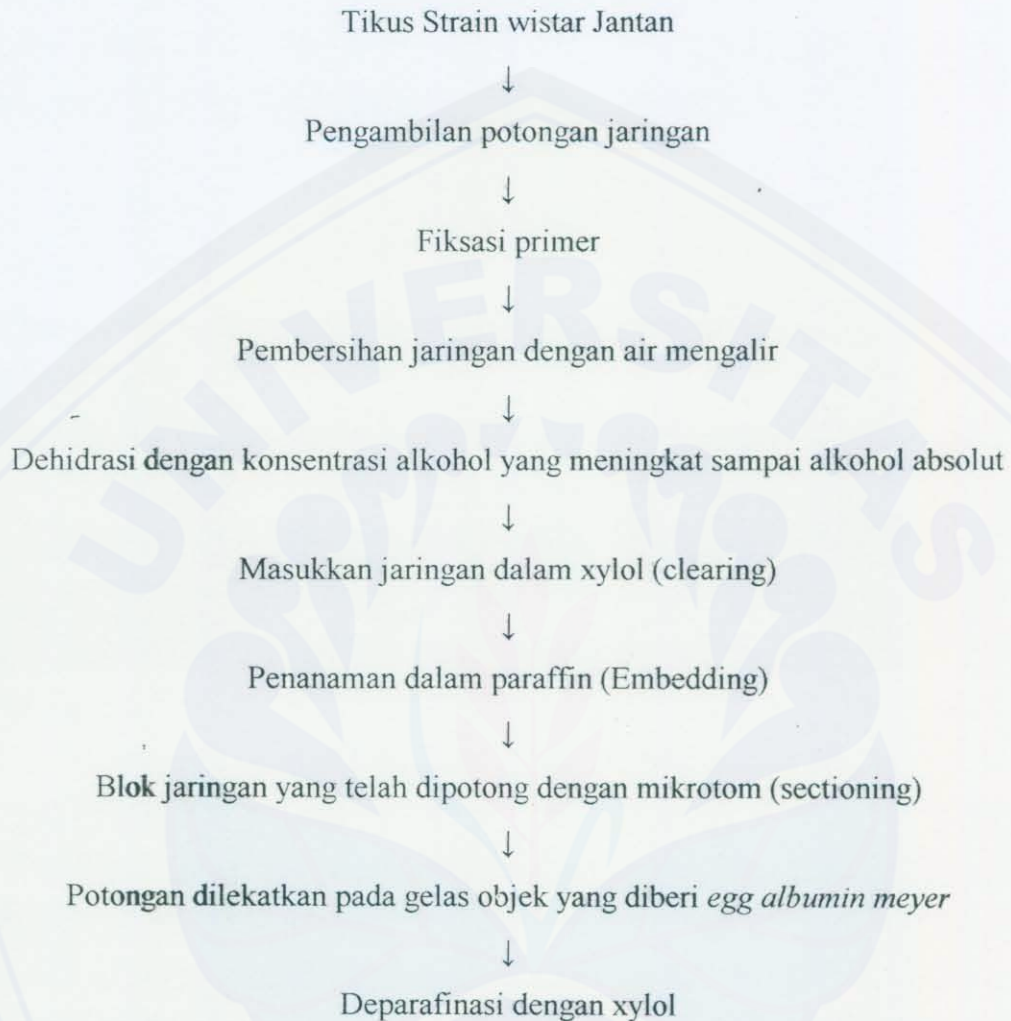
$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma_D^2}{\delta^2} \right]$$

$$n = \left[\frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma_D^2}{\delta^2} \right]$$

$$n = 7,896$$

$$n \approx 8$$

Jadi besar sampel minimal berdasarkan rumus diatas adalah sebesar 8 sampel untuk masing-masing kelompok (Steel dan Torrie, 1995).

Lampiran 3. Skema Pembuatan Sediaan

(Ruppel dalam Sobotta dan Hammersen, 1993 ; Sheldon dan Shommers, Ross dan Reith, 1985)

Lampiran 4. Tahap Pengecatan Sediaan

Pada pengecatan sediaan histologi dilakukan pewarnaan progresif menggunakan Hematoksilin Meyers, dimana hanya inti sel yang tercat biru sedangkan latar belakang tidak ada. Adapun proses pewarnaan progresif tersebut adalah seperti tabel dibawah ini:

Proses Pewarnaan Progresif

PROSES	LARUTAN	WAKTU (menit)
Deparafinisasi	Xylol	15 menit
	Xylol	15 menit
Hidrasi	Alkohol 96 %	2 menit
	Alkohol 95 %	2 menit
	Alkohol 80 %	2 menit
	Air mengalir	10 menit
Cat Utama	Hematoksilin Meyer	10 menit
	Air mengalir	15 menit
Cat Pembanding	Eosin	1,5 menit
Dehidrasi	Alkohol 80 %	5 celup
	Alkohol 95 %	5 celup
	Alkohol 96 %	2 celup
Dikeringkan		1 menit
Clearing	Xylol	10 menit
	Xylol	5 menit
Mounting	Entelallam	5 menit

Sumber : Soekamto, Soegeng (1996)

Lampiran 5 Gambar Alat dan Bahan Penelitian



Keterangan gambar :

- a. Mikroskop Binokuler
- b. Mikrotom



Keterangan gambar :
Kandang Pemeliharaan



Keterangan Gambar :

- a: Timbangan
- b: Bunsen
- c: Besi
- b: *Blade Scalpel*
- e: Gunting bedah
- f: Pinset
- g: Jarum fiksasi
- h. Stopwatch



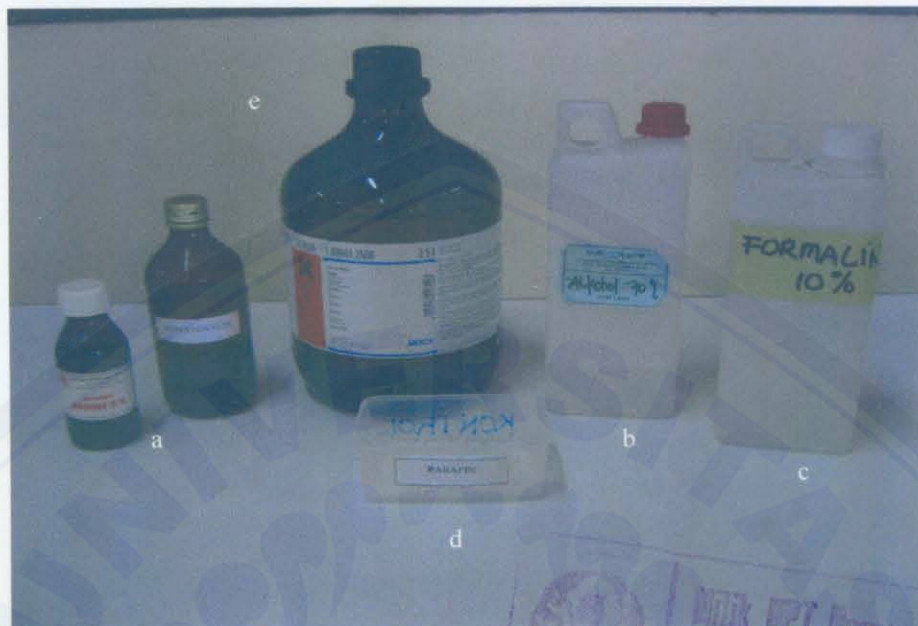
NTik UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER



Keterangan Gambar : *Electric foot Shock*



NTik UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

**Keterangan gambar:**

- a. Cat Haematoxin eosin (HE)
- b. Alkohol
- c. Bahan Fiksasi
- d. Parafin
- e. Xylol

Lampiran 6. Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan Uji *Independent T Test* Jumlah Limfosit

Uji Normalitas Data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol	8	16.2779	2.5666	12.22	19.11
Perlakuan	8	11.5562	2.2047	8.11	15.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.2779	11.5562
	Std. Deviation	2.5666	2.2047
Most Extreme Differences	Absolute	.285	.145
	Positive	.199	.145
	Negative	-.285	-.135
Kolmogorov-Smirnov Z		.805	.410
Asymp. Sig. (2-tailed)		.536	.996

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Lymfosit	Based on Mean	.956	1	14	.345
	Based on Median	.129	1	14	.724
	Based on Median and with adjusted df	.129	1	12.112	.725
	Based on trimmed mean	.865	1	14	.368

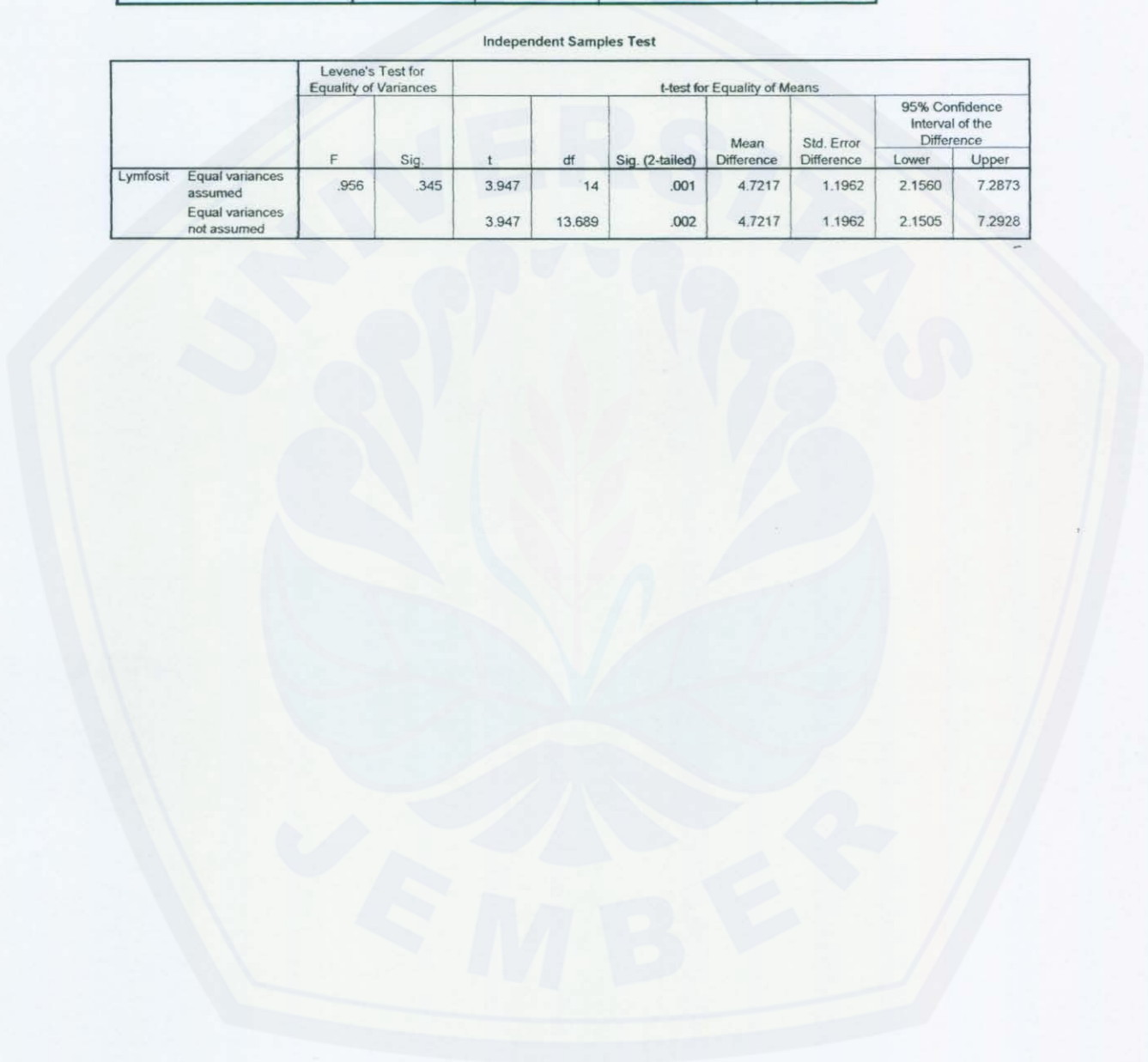
Independent Sample T-Test

Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Lymfosit	Kontrol	8	16.2779	2.5666	.9074
	Perlakuan	8	11.5562	2.2047	.7795

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
Lymfosit	Equal variances assumed	.956	.345	3.947	14	.001	4.7217	1.1962	2.1560	7.2873
	Equal variances not assumed			3.947	13.689	.002	4.7217	1.1962	2.1505	7.2928



Lampiran 7. Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan Uji *Independent T Test*
Jumlah PMN

Uji Normalitas Data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol	8	9.6113	1.3622	7.89	11.44
Perlakuan	8	6.3342	1.5148	4.11	8.44

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.6112	6.3342
	Std. Deviation	1.3622	1.5148
Most Extreme Differences	Absolute	.203	.186
	Positive	.201	.144
	Negative	-.203	-.186
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	.526
Asymp. Sig. (2-tailed)		.897	.945

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
PMN	Based on Mean	.070	1	14	.796
	Based on Median	.059	1	14	.812
	Based on Median and with adjusted df	.059	1	13.539	.812
	Based on trimmed mean	.070	1	14	.796

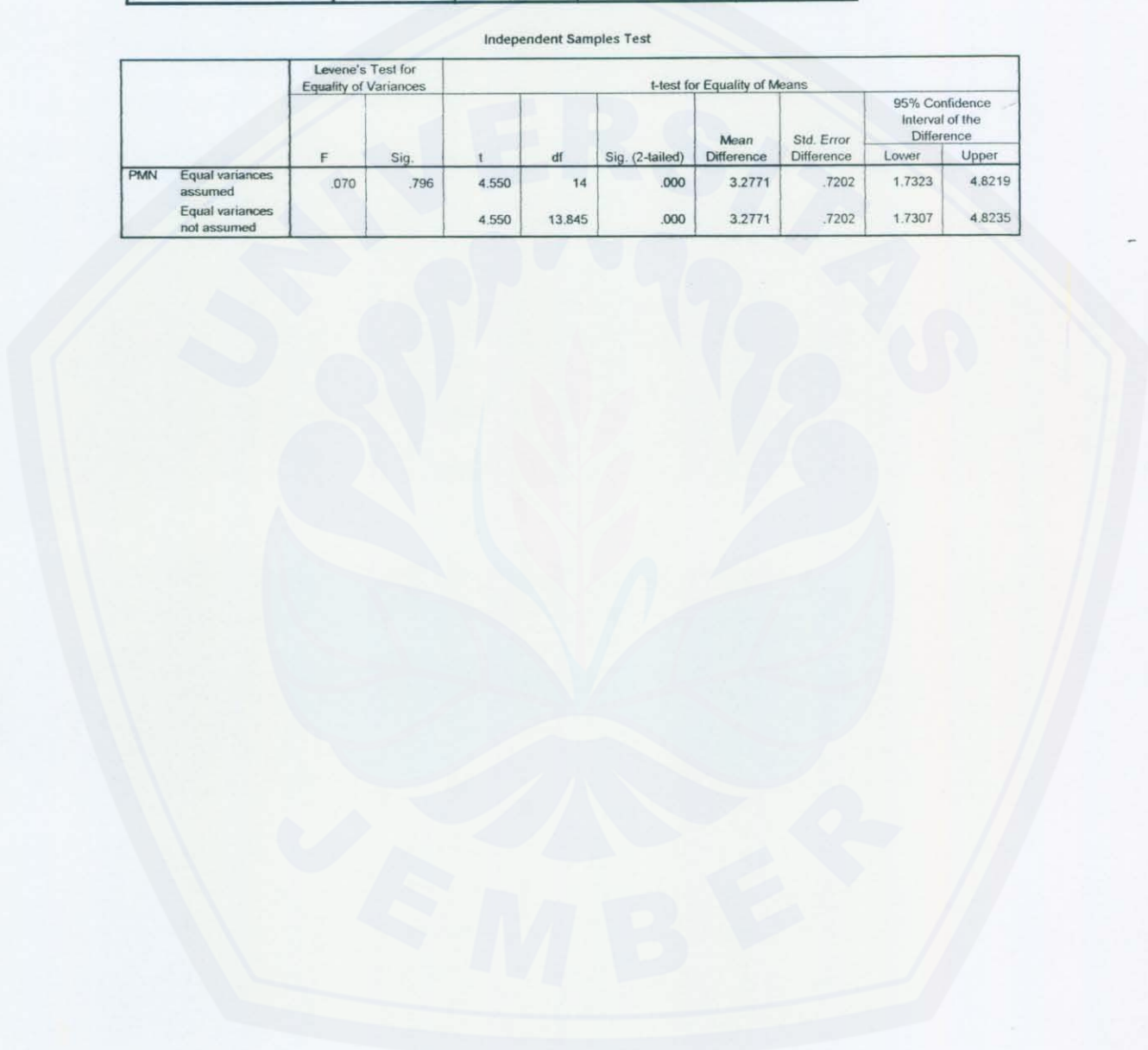
Independent Sample T-Test

Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
PMN	Kontrol	8	9.6113	1.3622	.4816
	Perlakuan	8	6.3342	1.5148	.5356

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
PMN	Equal variances assumed	.070	.796	4.550	14	.000	3.2771	.7202	1.7323	4.8219
	Equal variances not assumed			4.550	13.845	.000	3.2771	.7202	1.7307	4.8235



Lampiran 8. Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan Uji *Independent T Test* Jumlah Makrofag

Uji Normalitas Data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol	8	3.3750	.7855	2.33	4.67
Perlakuan	8	1.5417	.1725	1.33	1.67

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.3750	1.5417
	Std. Deviation	.7855	.1725
Most Extreme Differences	Absolute	.191	.391
	Positive	.191	.261
	Negative	-.145	-.391
Kolmogorov-Smirnov Z		.541	1.105
Asymp. Sig. (2-tailed)		.931	.174

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Makrofag	Based on Mean	10.191	1	14	.007
	Based on Median	9.164	1	14	.009
	Based on Median and with adjusted df	9.164	1	9.157	.014
	Based on trimmed mean	10.202	1	14	.006

Independent Sample T-Test

Group Statistics

Perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Makrofag	Kontrol	8	3.3750	.7855	.2777
	Perlakuan	8	1.5417	.1725	6.099E-02

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
Makrofag	Equal variances assumed	10.191	.007	6.448	14	.000	1.8333	.2843	1.2235	2.4432
	Equal variances not assumed			6.448	7.674	.000	1.8333	.2843	1.1727	2.4939



Milik UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER