

**PENGARUH STRESSOR RASA SAKIT TERHADAP JUMLAH
LEUKOSIT TOTAL DAN HITUNG JENIS LEUKOSIT DARAH
TIKUS *WISTAR* YANG DIBERI LUKA BAKAR**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Diajukan sebagai syarat untuk melaksanakan penelitian Karya Tulis Ilmiah
guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



Pembimbing :

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

Oleh :

Ajeng Choirin
NIM : 001610101053

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

Diterima oleh :

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Sebagai Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI)

Dipertahankan pada :

Hari : Sabtu

Tanggal : 9 April 2005

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi

Tim Penguji

Ketua ,

drg. Erna Sulistyani, M.Kes

NIP. 132 148 478

Sekretaris ,

drg. Banun Kusumawardani, M. Kes

NIP. 132 231 422

Anggota ,

drg. Izzata Barid, M.Kes

NIP. 132 162 520

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember



drg. Zamroti Hamzah, M.S

NIP. 131 558 576

MOTTO

- *“ Aku berpegang teguh pada kebesaran Allah karena Dialah yang Maha Kuasa dan Maha Segala-galanya. Keyakinanku kepada Allah adalah sumber kekuatan hidupku yang paling besar dalam kehidupanku. Dan aku percaya kepada diri dan kemampuanku, karena aku tahu bahwa sebutir kepercayaan diri lebih besar nilainya daripadasekarung bakat yang tertidur. Yakin kepada Allah dan percaya diri menciptakan mukjizat di atas dunia.”*

(Orang Bijak)

- *“ Ilmu enggan dengan pemuda yang congkak. Seperti banjir yang enggan terhadap tempat yang tinggi.”*

(Sa'id Hawuwa)

PERSEMBAHAN

Kuperuntukkan Karya Tulis Ilmiah ini untuk :

1. Ayahanda tercinta Usman Djuanda dan Ibunda terkasih Anik Sulastri yang telah melahirkan dan membesarkanku dengan kasih sayang dan cucuran doa. Hanya dengan menjadi yang terbaik dan berguna bagi sesama yang dapat membalas semua pengorbananmu.
2. Kakakku tersayang Yohana Octavianda dan Tutut Sandy Waskito.
3. Adikku tersayang Qurrota Aini.
4. Teman-temanku seperjuangan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, taufik, serta karunia-Nya sehingga Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Pengaruh Stressor Rasa Sakit Terhadap Jumlah leukosit Total Dan Hitung Jenis Leukosit Darah Tikus Wistar yang diberi Luka Bakar” ini dapat terselesaikan. Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil penelitian eksperimental laboratoris yang dilaksanakan di kampus Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada :

1. drg. Zahreni Hamzah, M.S., 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 meluangkan waktunya untuk memberikan pengarahan, bimbingan, masukan, serta koreksi dan perbaikan demi terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
3. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes, selaku sekretaris yang telah memberikan masukan dan bimbingan guna kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Semua staf pengajar di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas materi-materi kuliah yang diberikan.
5. Mas Agus, Mas Erwin dan Mbak Nur yang telah memberikan tempat dan bantuan tenaga serta pikiran selama kami penelitian.
6. Kakakku Rurit Obyantoro, untuk kasih sayang serta dukungan dan motivasi yang tiada terhitung banyaknya.
7. Enti, Hayu, Ika, Iis, Maria, dan mbak Mely yang banyak menyertaiku dalam meraih sebuah cita-cita.
8. Staf Lab. Kesda Jember yang telah membantu dalam penelitian kami
9. Ella Sandri Ellen, Linna Zulvia, Shiffin Devi, Winanti Ratri, dan mbak Rahmidian Safitri, sebagai sahabat dan tetangga yang baik, membantu dan

motivasi dikala aku mengalami kesulitan dan memberikan keceriaan dikala aku memperoleh keberhasilan.

10. Warga kost Jawa II – D/ 9, ada Like, Ita, Lita, Winda, Imas dan Vina, terima kasih atas dukungan dan semangatnya.
11. Keluargaku tercinta, terimakasih atas doa, dorongan dan bantuannya.
12. Seluruh keluarga besar angkatan 2000 terima kasih atas kritikan dan masukannya.
13. Team akademik Pak H. Satar cs, Lab Biomedik dan Lab MIPA Fisika, terima kasih atas segala bantuannya.
14. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis dalam kesempatan ini juga ingin menyampaikan maaf apabila dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

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 GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR RUMUS	xiv
RINGKASAN	xv
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.....	4
2.1.3 Akibat Stres.....	5
2.1.4 Stressor Rasa Sakit (Renjatan Listrik).....	5
2.2 Luka Bakar.....	8
2.3 Leukosit.....	9
2.3.1 Definisi Leukosit.....	9

2.3.2 Jenis – Jenis Leukosit.....	9
2.3.3 Leukosit Tikus.....	15
2.3.4 Hitung jenis Leukosit	15
2.4 Hipotesis.....	16

III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian, Tempat , dan Waktu penelitian.....	17
3.1.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	17
3.1.2 Tempat penelitian	17
3.1.3 Waktu Penelitian.....	17
3.2 Identifikasi Variabel Penelitian.....	17
3.2.1 Variabel Bebas.....	17
3.2.2 Variabel Terikat.....	17
3.2.3 Variabel Antara	17
3.2.4 Variabel Terkendali	17
3.3 Definisi Operasional Penelitian	18
3.3.1 Stresor Rasa Sakit.....	18
3.3.2 Luka Bakar.....	18
3.3.3 Hitung Jumlah Leukosit Total	18
3.3.4 Hitung jenis Leukosit	18
3.4 Populasi dan Sampel	18
3.4.1 Populasi.....	18
3.4.2 Sampel	18
3.5 Alat dan Bahan penelitian.....	20
3.5.1 Alat Penelitian.....	20
3.5.2 Bahan Penelitian	20
3.6 Prosedur Penelitian	21
3.6.1 Tahap Persiapan.....	21
3.6.2 Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba.....	21
3.6.3 Hitung Jumlah Leukosit Total	22
3.6.4 Hitung Jenis Leukosit (Differential Count)	22

3.7 Analisa Data	23
3.8 Skema penelitian	24
IV. HASIL DAN ANALISA DATA	
4.1 Hasil	25
4.2 Analisa Data	27
V. PEMBAHASAN	29
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	36
6.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hasil Pemeriksaan Jumlah Leukosit Total Pada Sampel Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan Akibat Stressor Rasa sakit.....	25
Tabel 2.	Hasil Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit Pada Sampel Kelompok Kontrol (-), kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan Akibat Stresor Rasa Sakit.....	26
Tabel 3.	Hasil Uji Homogenitas Pada Pemeriksaan Jumlah Leukosit Total Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) Dan Kelompok Perlakuan	27
Tabel 4.	Hasil Uji <i>Anova Satu Arah</i> Pada Pemeriksaan Jumlah Leukosit Total	27
Tabel 5.	Hasil Uji <i>Duncan</i> Jumlah Leukosit Total Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) Dan Kelompok Perlakuan	28

DAFTAR GAMBAR

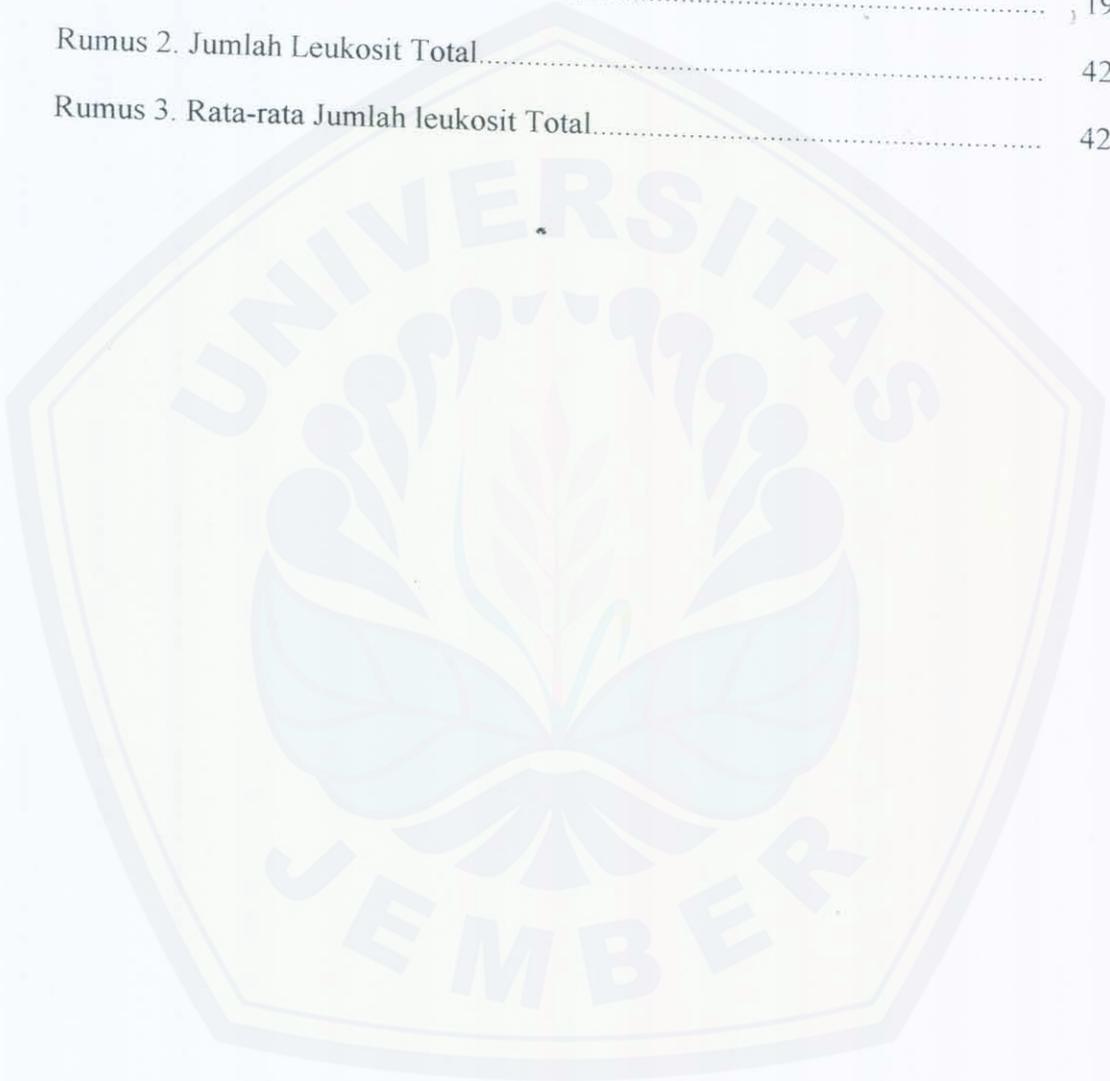
Gambar 1.	Jalur Stresor Renjatan Listrik	7
Gambar 2.	Deret lymfosit	10
Gambar 3.	Deret Monosit	11
Gambar 4.	Deret Neutrofil.....	12
Gambar 5.	Deret Eosinofil.....	13
Gambar 6.	Deret Basofil.....	14
Gambar 7.	Histogram Rata- Rata Jumlah Leukosit Total Pada Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) Dan Kelompok Perlakuan	25
Gambar 8.	Histogram Rata-Rata Hitung Jenis Leukosit Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) Dan Kelompok Perlakuan .	26
Gambar 9.	Diagram Pengaruh Stresor Renjatan Listrik Terhadap Jumlah Leukosit Total Pada Tikus <i>wistar</i> Yang Diberi Luka Bakar.....	34
Gambar 10.	Diagram Pengaruh Stressor Renjatan Listrik Terhadap Hitung jenis Leukosit Pada Tikus <i>wistar</i> Yang Diberi Luka Bakar.....	35
Gambar 11.	Kamar Hitung (<i>Improved Neubauer</i>).....	43
Gambar 12.	Cara Menghitung Leukosit di dalam Kamar Hitung.....	44
Gambar 13.	Kolom Hitung Jenis Leukosit	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Makanan Standar Tikus.....	40
Lampiran 2.	Hitung Jumlah Leukosit Total.....	41
Lampiran 3.	Hitung Jenis Leukosit (Differential Count).....	45
Lampiran 4.	Data Pengamatan Dalam 3 Kali Ulangan Jumlah Leukosit Total Pada Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan.....	48
Lampiran 5.	Data Pengamatan Dalam 3 Kali Ulangan Hitung Jenis Leukosit Pada Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan.....	49
Lampiran 6.	Uji Normalitas Jumlah Leukosit Total Dan Hitung Jenis Leukosit.....	50
Lampiran 7.	Ringkasan, Uji Homogenitas, Uji ANOVA dan Uji Duncan Jumlah Leukosit Total.....	51
Lampiran 8.	Ringkasan Hitung Jenis Leukosit.....	53
Lampiran 9.	Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	54

DAFTAR RUMUS

Rumus 1. Besar Sampel.....	19
Rumus 2. Jumlah Leukosit Total.....	42
Rumus 3. Rata-rata Jumlah leukosit Total.....	42



RINGKASAN

Ajeng Choirin, NIM 001610101053 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, "Pengaruh Stressor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Total dan Hitung Jenis leukosit Darah Tikus *Wistar* Yang Diberi Luka Bakar". Penelitian Eksperimental Laboratoris, 57 Halaman, dibawah bimbingan drg. Erna Sulistyani, M.Kes (DPU) dan drg. Izzata Barid, M.Kes (DPA).

Stres memang menjadi masalah yang menarik untuk dibahas seiring dengan banyaknya stressor yang mengancam kehidupan. Ancaman tersebut dapat membahayakan tubuh kita, lebih jauh lagi dapat menyebabkan gangguan pada sistem kekebalan tubuh. 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.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah leukosit total dan hitung jenis leukosit darah tikus *wistar* yang diberi luka bakar setelah pemberian stressor rasa sakit berupa renjatan listrik. Dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stressor rasa sakit terhadap perubahan jumlah leukosit total dan hitung jenis leukosit darah akibat adanya jejas serta dapat berguna dalam aplikasi klinis khususnya kedokteran gigi dalam menangani pasien dengan kondisi stres.

Metode penelitian dengan menggunakan sampel tikus *wistar* dengan kriteria tikus *wistar* jantan. Sampel terdiri dari 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (-) yaitu kelompok tanpa perlakuan (8 tikus *wistar*), kelompok kontrol (+) yaitu kelompok perlakuan dengan pemberian luka bakar (8 tikus *wistar*) dan kelompok perlakuan dengan pemberian luka bakar dan stresor *electrical foot shock* (8 tikus *wistar*). Pada kelompok perlakuan diberi stressor *electrical foot shock* dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng dari kuningan di dasar kandang perlakuan. Tegangan listrik yang digunakan sebesar 25V dengan frekuensi 60 Hz selama 7 hari. Kelompok kontrol (+) dan perlakuan diberi luka bakar pada hari ketujuh. Duapuluh empat jam kemudian dilakukan pengambilan darah intrakardial dan dilakukan pemeriksaan jumlah leukosit total dan hitung jenis leukosit.

Data hasil penelitian dianalisa dengan menggunakan uji *ANOVA satu arah* dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk melihat perbedaan diantara ketiga kelompok. Uji *Duncan* Jumlah leukosit total menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara ketiga kelompok.

Mekanisme pengaruh stressor renjatan listrik dapat mempengaruhi pelepasan hormon adrenokortikotropik (ACTH) dari pituitari yang akan menyebabkan pelepasan glukokortikoid yang bekerja immunosupresif. Pemberian glukokortikoid dapat menurunkan jumlah leukosit total, prosentase limfosit dan monosit, sebaliknya juga dapat menurunkan prosentase neutrofil dan eosinofil dalam sirkulasi.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stres sampai saat ini masih menjadi masalah yang menarik untuk diteliti seiring dengan perubahan-perubahan sosial yang terjadi dalam kehidupan masyarakat. Tidak semua orang mampu menyesuaikan diri dengan perubahan-perubahan tersebut yang pada akhirnya dapat menimbulkan ketegangan atau stres pada dirinya (Mappiare, 1992). Berbagai macam stressor dapat menyebabkan stress. Baik stressor psikis maupun fisik dapat menimbulkan perubahan tingkah laku atau kondisi fisik seseorang (Lubis, 2000). Keberadaan stressor yang terjadi secara terus-menerus tidak hanya akan mengganggu kesehatan tetapi juga dapat melemahkan sistem kekebalan tubuh (Quade dan Aikmann, 1991). Penurunan sistem kekebalan tubuh akan mempengaruhi respons terhadap jejas, namun sampai sekarang hal tersebut masih belum dibuktikan dengan jelas.

Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh-pengaruh stressor, baik stressor psikis maupun fisik terhadap kesehatan individu. Penelitian terhadap manusia yang dilakukan oleh Holmes dalam Hawari (2001) terhadap para eksekutif (yang bergerak di bidang usaha dan politik) menunjukkan bahwa 80% dari responden mengalami stres, depresi, dan penyakit gawat lainnya.

Penelitian oleh Hawari (1996) bahwa kini di Indonesia terdapat enam penyebab kematian utama yang erat hubungannya dengan stres, antara lain; penyakit jantung koroner, kanker, paru-paru, kecelakaan, pengerasan hati dan bunuh diri. Penelitian terhadap hewan coba yang dilakukan oleh Achmad (1996) dalam Asnar (2001) membuktikan bahwa peningkatan kadar kortisol akibat pemberian stres pada tikus jantan dapat mempengaruhi respons imun dengan menurunkan proliferasi limfosit B. Penelitian yang serupa dilakukan oleh Sumintarti (1997) dalam Asnar (2001) yang menyebutkan bahwa pemberian stressor rasa sakit berupa renjatan listrik menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan menurunkan jumlah leukosit darah tepi tikus.

Dari hal tersebut maka dirasa perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat pengaruh stressor rasa sakit sebagai penyebab stress terhadap perubahan jumlah leukosit total dan hitung jenis leukosit pada tikus *wistar* yang diberi luka bakar sebagai respons terhadap jejas.

Kendala-kendala yang dihadapi untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh stressor terhadap kesehatan individu sering ditemui, misalnya pada penelitian yang menggunakan manusia sebagai subjek penelitian. Stressor pada tiap individu berbeda-beda dan biasanya lebih dari satu macam jenis stressor yang menyerang, sehingga sulit untuk membuat stressor yang seragam atau homogen, selain itu respon yang dihasilkan oleh masing-masing individu juga akan berbeda-beda baik secara psikis maupun fisik (Maramis, 1980). Demikian juga dengan menggunakan hewan coba, terkadang sulit untuk menentukan apakah hewan tersebut sudah dikatakan dalam keadaan stres, terutama secara psikis (Bagnara dan Turner, 1988).

Menurut Medicophysiological Approach (MA), stres merupakan efek fisiologis terhadap stimulasi yang mengancam (Sulistiyani, 2003). Salah satu stressor fisik dapat berupa stressor rasa sakit. Stressor rasa sakit yang digunakan dalam penelitian ini berupa renjatan listrik dengan menggunakan "*electrical foot shock*", dimana penjalaran arus listriknya dari kaki ke seluruh tubuh sehingga akan memberikan respon berupa rasa sakit. Banyak penelitian telah dilakukan dengan renjatan listrik sebagai stressor untuk menimbulkan stres yang memberi dampak pada target spesifik, telah terbukti dan menunjukkan akurasi yang tepat (Jain, Podolski, Kort-Basso, Kaplan, Kusnecov, Shurin, Shanks, Sumintarti, Campos, Hikichi, Otagiri dalam Asnar, 2001).

Penelitian ini menggunakan tikus jantan sebagai hewan percobaan, karena memiliki beberapa keuntungan antara lain, siklus hidupnya relatif panjang, pemeliharaannya cukup mudah dan dapat dipakai untuk mewakili mamalia termasuk manusia oleh karena tikus mempunyai sistem neuroendokrin yang sama dengan manusia (Baker, 1980). Luka bakar yang diberikan pada tikus bertujuan untuk melihat respons imun terhadap jejas. Metode eksperimental laboratorium

dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmojo, 2002).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah stressor rasa sakit dapat menurunkan jumlah leukosit total pada darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar?
2. Apakah stressor rasa sakit dapat merubah hitung jenis leukosit pada darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar setelah dipapar stressor rasa sakit ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk :

1. Mengetahui bahwa stressor rasa sakit dapat menurunkan jumlah leukosit total pada darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar.
2. Mengetahui bahwa stressor rasa sakit dapat merubah hitung jenis leukosit pada darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stressor rasa sakit terhadap penurunan jumlah leukosit total dan perubahan hitung jenis leukosit tikus *wistar* yang diberi luka bakar.
2. Dapat digunakan dalam aplikasi klinis khususnya kedokteran gigi dalam menangani pasien dengan kondisi stres.
3. Digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi stres

Stres merupakan istilah yang memiliki arti luas dan sering membingungkan. Menurut Medicophysiological Approach (MA), stres merupakan efek fisiologis terhadap stimulasi yang mengancam (Sulistiyani, 2003). Stres adalah tanggapan atau reaksi tubuh terhadap berbagai tuntutan atau beban atasnya yang bersifat non spesifik. Manakala tuntutan terhadap tubuh itu berlebihan, maka hal ini dinamakan *distres* (Seyle dalam Hawari, 1996). Menurut Suharmiati dan Maryani (2003) stres pada dasarnya adalah reaksi jiwa dan raga terhadap perubahan yang terjadi dalam hidup kita.

Maramis (1980) mengatakan stres ialah segala masalah atau tuntutan penyesuaian diri dan karena itu sesuatu yang mengganggu keseimbangan kita. Menurut Ibrahim dalam Anonim (2000) stres merupakan keadaan dimana jiwa dipenuhi beban-beban dan tubuh memberikan reaksi atas keadaan tersebut.

2.1.2 Mekanisme Stres

Terdapat banyak bukti yang mendukung bahwa suatu aksis pituitari-adrenal beroperasi pada seluruh vertebrata dan adrenal mensekresikan hormon serupa dari ikan sampai mamalia. Kortisol adalah glukokortikoid dominan pada manusia, kera, anjing dan hamster, sedangkan tikus, mencit dan kelinci terutama mensekresikan kortikosteron. Hormon-hormon korteks adrenal esensial untuk manifestasi penuh tanggapan tertentu terhadap stres, namun hal tersebut bukannya merupakan penyebab langsung tanggapan itu (Bagnara dan Turner, 1988).

Sekresi *Adenocorticotropic Hormon* (ACTH) dan kortisol plasma juga secara karakteristik mempunyai respon terhadap stres fisik. Sekresi ACTH dan kortisol plasma dimulai dalam beberapa menit setelah terjadi stres seperti pada pembedahan dan hipoglikemia, dan respon ini menghilangkan periodisitas sirkadian jika stres ini berlangsung terus. Respon terhadap stres yang berasal dari

susunan saraf pusat menunjukkan sekresi *Corticotropic Releasing Hormon* (CRF) dan ACTH hipofisis (Baxter, 1998).

2.1.3 Akibat Stres

Beban tubuh karena stressor yang tinggi dapat menekan sistem kekebalan tubuh sehingga tubuh mudah terserang penyakit. Pada stress yang berkepanjangan akan terjadi peningkatan tekanan darah dan denyut jantung, gangguan pencernaan, ketegangan otot dan nyeri punggung, kelemahan sistem kekebalan tubuh, meningkatkan kerentanan terhadap infeksi serta memperparah kondisi kronis, misalnya eksim. Stres berlebihan merusak berbagai aspek fisiologi, termasuk respons imun, sistem kardiovaskular, sistem saraf maupun kemampuan reproduksi (Hawari, 1996).

Stres yang berlarut-larut meningkatkan kadar neurotransmitter serotonin, dopamin dan katekolamin. Peningkatan kadar serotonin dan dopamin mengganggu fungsi otak, sehingga menyebabkan timbulnya gejala somatik (jasmani) seperti pusing, keluar keringat dingin, sementara itu tingginya kadar katekolamin di peredaran darah dalam jangka panjang dapat menyebabkan hipertensi (tekanan darah tinggi), hiperlipidemi (kadar kolesterol tinggi) dan infark jantung (Ibrahim dalam Anonim, 2000).

2.1.4 Stressor rasa sakit (Renjatan Listrik)

Stressor rasa sakit menyebabkan sensasi nyeri atau gangguan sensasi yang menyakitkan atau menekan perasaan. Aplikasi stimulus dari stressor rasa sakit akan menimbulkan impuls atau gelombang rangsang pada organ-organ ujung saraf yang mempersepsi rasa sakit yaitu serabut non-medula bebas. Keparahan rasa sakit yang dialami individu dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah jumlah serabut saraf yang diaktifkan dan bukan karena perubahan besar impuls yang diterima serabut saraf. Respons yang bervariasi terhadap stimulus sakit yang identik bukan disebabkan oleh perbedaan persepsi rasa sakit tetapi disebabkan oleh variasi reaksi rasa sakit. "Reaksi rasa sakit" adalah istilah yang digunakan untuk mendeskripsikan integrasi dan apresiasi rasa sakit pada sistem saraf sentral di korteks dan talamus posterior (Howe, 1992).

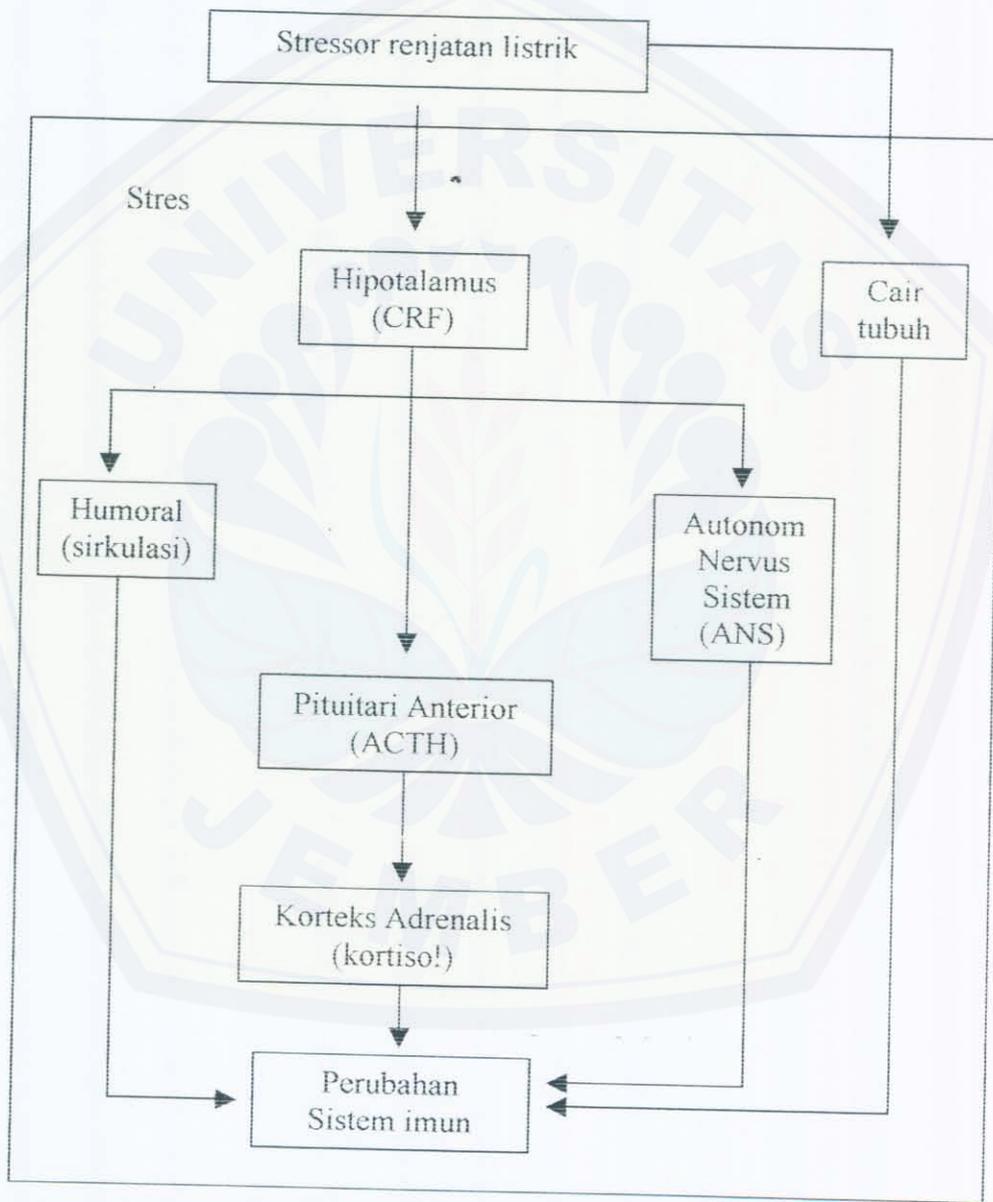
Renjatan listrik merupakan stressor rasa sakit yang dapat menimbulkan stres pada individu (Kort Basso; Kaplan (1996) dalam Asnar, 2001). Stressor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respons imun yaitu melalui aksis otak-pituitari-adrenal. Individu yang mendapat stressor menahun akan mengalami penurunan fungsi respons imun, sehingga mengakibatkan individu tersebut lebih mudah terinfeksi atau timbul kerusakan akibat reaksi imunopatologi (Putra, 1999).

Dalam penelitiannya, Achmad (1996) membuktikan bahwa peningkatan kadar kortisol akibat pemberian stres menurunkan respons proliferasi limfosit B. Penurunan respons proliferasi limfosit B akan menurunkan kadar SigA. Sali (1997) dalam Asnar (2001) juga menyatakan bahwa otak sangat berperan dalam patogenesis penyakit, hal ini terbukti bahwa stres dan depresi dapat menekan imunitas yang memudahkan penyakit infeksi.

Semua leukosit mempunyai reseptor glukokortikoid, sedangkan reseptor dikendalikan oleh otak, maka otak mempunyai peran dalam supresi. Karena otak merupakan pengontrol produksi glukokortikoid, maka otak bertanggung jawab pada pengaruh supresi sistem ketahanan imunologis. Menurut penelitian Keller pada tahun 1983, syok listrik pada mencit dapat mengakibatkan penurunan jumlah limfosit dalam darah. Penurunan jumlah limfosit ini disebabkan oleh pelepasan glukokortikoid yang dipicu oleh stres (Notosoedirdjo, 1998 dalam Asnar, 2001). Penelitian Sumintarti tahun 1997 menyatakan bahwa pemberian stres listrik dengan "*electrical foot shock*" menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah, antara lain granulosit, limfosit T, limfosit B, komplemen.

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 dapat mempengaruhi fungsi sistem imun selain melalui aksis HPA, juga melalui jalur humoral, cair tubuh dan sistem saraf autonom (ANS) (Asnar, 2001). Perjalanan stressor renjatan listrik digambarkan secara sistematis pada gambar 1.



Gambar 1. Jalur stressor renjatan listrik

2.2 Luka bakar

Luka bakar merupakan salah satu penyebab peradangan pada tubuh. Luka bakar merupakan trauma dan stres yang berkepanjangan (Winata, 1996). Luka bakar karena api atau akibat tidak langsung dari api dapat menyebabkan hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Proses penyembuhan luka pada jaringan yang rusak dibagi dalam tiga fase, yaitu :

1. Fase Inflamasi (Peradangan)

Peradangan adalah reaksi vaskular yang hasilnya merupakan pengiriman cairan, zat-zat yang terlarut dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstisial pada daerah cedera atau nekrosis (Price dan Wilson, 1994).

Peradangan pada luka bakar akan terjadi reaksi vaskular, reaksi seluler dan reaksi humoral.

1. Reaksi vaskular

Vasodilatasi yang diikuti perubahan permeabilitas pembuluh darah, terjadi eksudasi plasma darah dan keluarnya leukosit dari pembuluh darah, sehingga mengakibatkan bengkak, hangat, merah dan nyeri (Guyton, 1996)

2. Reaksi seluler

Aktivasi fagosit dan makrofag dalam sistem pertahanan tubuh seluler sehingga terjadi fagositosis dan imunitas seluler. Polimorfonuklear (PMN) menyebabkan pelebaran kapiler dan permeabilitas pembuluh darah meningkat sehingga makrofag keluar dari pembuluh darah menuju daerah radang (Sherwood, 2001)

3. Reaksi humoral

Melibatkan sistem komplemen dan antibodi (Price dan Wilson, 1994)

2. Fase Proliferasi

Disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblas. Pada fase fibroplasia ini luka dipenuhi sel radang, fibroblast dan kolagen, memebentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan yang berbenjol halus yang disebut jaringan granulasi (de Jong, 1997).

3. Fase Penyudahan

Fase penyudahan ini terjadi proses pematangan yang terdiri dari penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan sesuai dengan gaya gravitasi dan akhirnya perupaan kembali jaringan yang baru terbentuk. Selama proses ini dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis dan lemas serta mudah digerakkan dari dasar (de Jong, 1997).

2.3 Leukosit

2.3.1 Definisi leukosit

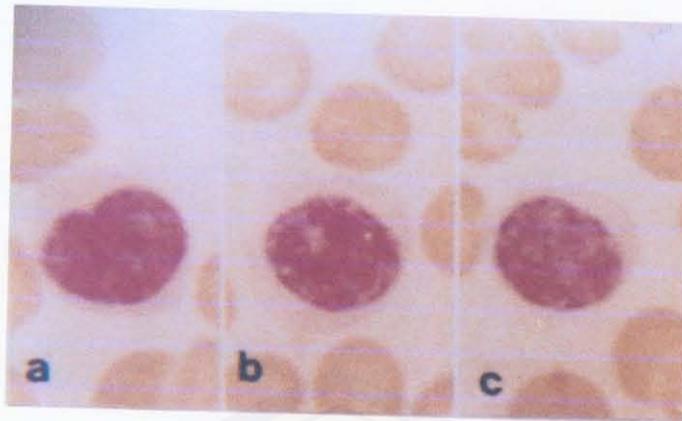
Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang mengandung inti. Dalam darah manusia normal terdapat jumlah leukosit rata-rata 5000-9000 sel permilimeter kubik (Leeson, 1996). Leukosit yang bersirkulasi dalam aliran darah dan emigrasi kedalam eksudat peradangan berasal dari sumsum tulang, dimana tidak saja leukosit tetapi juga sel-sel darah merah dan trombosit dihasilkan secara terus-menerus (Price dan Wilson, 1994)

2.3.2 Jenis-jenis Leukosit

1. Leukosit Agranular

a. Limfosit

Di dalam darah manusia, limfosit merupakan sel-sel bulat dengan diameter yang bervariasi antara 6 sampai 8 μm , walaupun beberapa diantaranya mungkin lebih besar. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35% dari leukosit darah normal (Leeson, 1996). Secara morfologis, limfosit termasuk diantara sel-sel tubuh yang paling non deskriptif. Umumnya mempunyai inti besar, kasar, sferis, berwarna sangat gelap dan memiliki sitoplasma yang relatif sedikit. Bentuk limfosit pada hapusan darah dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Deret Lymfosit

Keterangan :

a-c lymfosit :lymfosit-lymfosit kecil jelas kelihatan pada gambar c
(Sumber : Graigmyle, 1994)

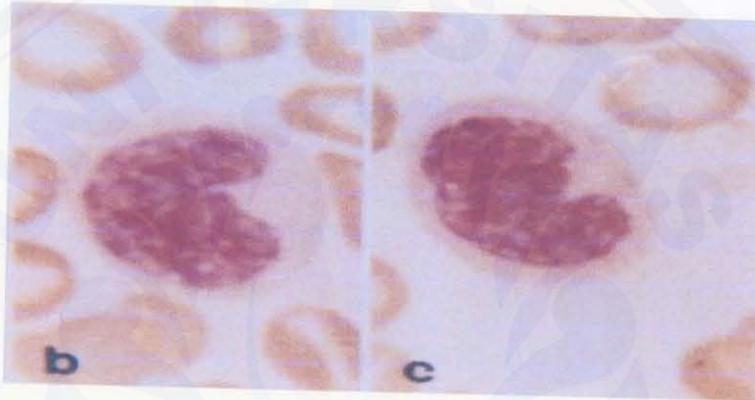
Sel-sel limfosit berbeda satu dengan lainnya dalam hal (1) perjalanan proses perkembangannya (2) siklus hidupnya (3) masing-masing mengalir melalui jalur yang berlainan dalam tubuh (4) memiliki sifat permukaan yang berlainan dan yang paling penting (5) fungsinya yang berlainan (Price dan Wilson, 1994). Sel-sel yang menempati timus ditransformasi oleh lingkungan organ ini menjadi limfosit yang berperan pada kekebalan selular (limfosit T) (Ganong, 1998).

Sel-sel limfosit T bertanggung jawab terhadap reaksi imun selular dan mempunyai reseptor permukaan yang spesifik untuk mengenal antigen asing (Price dan Wilson, 1994). Ada dua tipe utama limfosit T yaitu : T_4 helper cell dan sel efektor T_8 . T_4 helper cell adalah sel sentral dari seluruh sistem imun karena berhubungan dengan (1) pengenalan antigen (2) pembentukan bank memori sel (3) stimulasi dari sel efektor pada sistem imun melalui produksi helper lymphokine yang akan mengaktifkan limfosit B dan T (Manson dan Eley, 1993). Limfosit-limfosit yang lain, sel-sel B (disebut demikian karena memerlukan bursa fabricius untuk perkembangannya, yaitu suatu organ limfoid dalam kloaka burung, yang pada mamalia tidak diketahui padanannya), kelihatannya tidak melalui timus tetapi bergerak langsung lewat peredaran darah ke jaringan limfoid umumnya. Sel-sel B bertugas untuk memproduksi antibodi ("*humoral antibody response*"), yang beredar dalam peredaran darah dan mengikat secara khusus dengan antigen asing yang menyebabkan terbentuknya

“antigen asing-tersalut antibodi” (*antibody-coated foreign antigen*) (Leeson, 1996).

b. Monosit

Monosit merupakan sel besar yang jumlahnya 3 sampai 8% dari leukosit normal darah. Diameternya 9 sampai 10 μ m tetapi pada hapus darah kering, menjadi pipih, mencapai diameter 20 μ m atau lebih (Leeson, 1996). Bentuk monosit pada hapusan darah dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Deret Monosit

Keterangan

b-c monosit : intinya berbentuk ginjal, sitoplasmanya merah kelabu bergranula halus

(Sumber : Graigmyle, 1994)

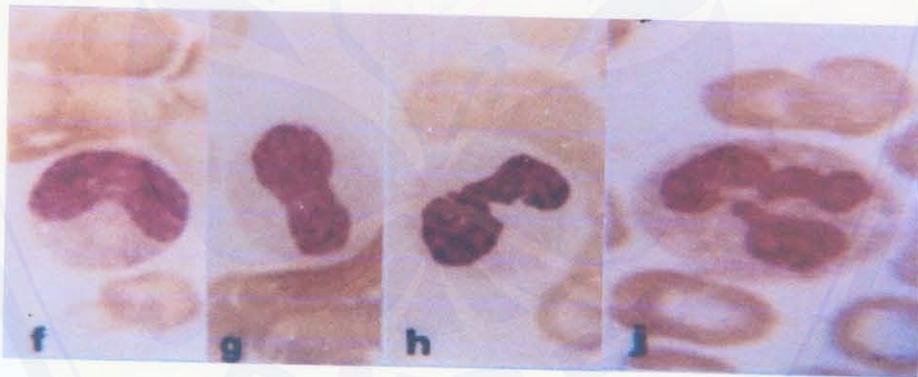
Monosit dari sumsum tulang masuk ke dalam darah dan beredar selama kurang lebih 72 jam. Sel-sel ini kemudian masuk ke dalam jaringan dan menjadi makrofag jaringan. Sel makrofag akan diaktifkan oleh limfokin dari limfosit T. Makrofag yang aktif akan bermigrasi sebagai respon terhadap rangsangan kemotaksis, selanjutnya menelan dan membunuh bakteri melalui proses yang umumnya serupa dengan neutrofil (Ganong, 1998). Makrofag yang matang tergolong sistem retikuloendotelial (RES) yang sekarang disebut sistem monosit-makrofag, terdapat di jaringan konektif diseluruh dasar membran pembuluh darah kecil, terutama terpusat di dalam paru (makrofag alveolar), hati (sel Kupffer), sinusoid limpa, serta sinus medula nodus limfatik, sehingga

dengan mudah dapat bertindak sebagai penyaring material asing (Roeslan, 2002).

Fungsi penting monosit-makrofag, tentu saja menyangkut aktivitas fagositosis yang hebat dari sel-sel komponennya. Sel-sel ini membersihkan darah, limfe dan ruang-ruang interstisial dari benda asing, dengan demikian merupakan fungsi pertahanan yang penting (Price dan Wilson, 1994)

2. Leukosit Granular
 - a. Neutrofil

Neutrofil yang termasuk leukosit polimorfonuklear dalam keadaan segar berdiameter 7 sampai 9 μm dan dalam hapusan darah kering 10 sampai 12 μm . Dalam darah manusia neutrofil berjumlah paling banyak dan merupakan 65 sampai 75 % dari jumlah seluruh leukosit (Leeson, 1996). Bentuk neutrofil pada hapusan darah dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Deret Neutrofil

Keterangan :

f-g Stab neutrofil : intinya seperti batang, lurus atau bengkok, kromatinnya kasar.

h-j Segmen neutrofil : khas karena intinya bersegmen-segmen, kromatinnya kasar bergumpal.

(Sumber : Graigmyle, 1994)

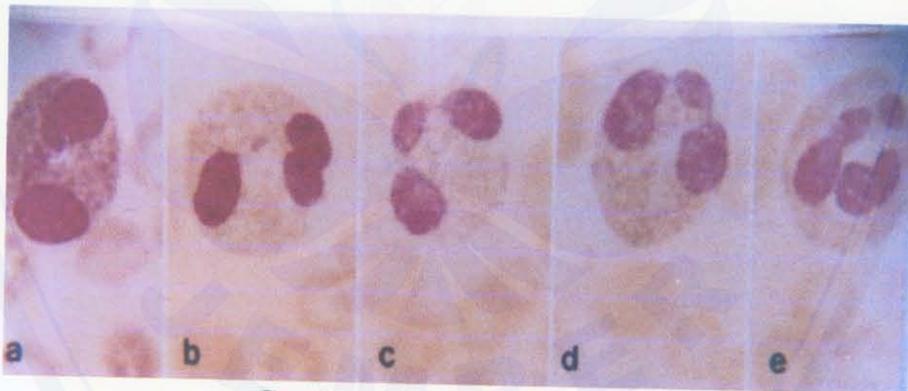
Neutrofil berumur pendek, hanya beberapa hari. Terdapat granula yang mengandung sejumlah faktor bakterisidal. Setelah 12 jam tinggal di dalam darah, PMN masuk ke jaringan (Roeslan, 2002). Neutrofil mampu

bergerak aktif seperti amuba dan mampu menelan berbagai zat dengan proses yang disebut fagositosis. Proses ini dibantu oleh zat-zat tertentu (opsonin) yang melapisi obyek untuk dicernakan dan membuatnya lebih mudah dimasukkan oleh leukosit. (Price dan Wilson, 1994).

Substansi kimia akan menarik PMN ke daerah yang rusak dimana partikel asing akan dihancurkan. Walaupun peranannya adalah untuk pertahanan primer, PMN juga dapat memproduksi enzim proteolitik yang dapat merusak jaringan sekitarnya (Manson dan Eley, 1993).

b. Eosinofil

Leukosit eosinofil atau leukosit asidofil agak lebih besar daripada neutrofil dan dalam keadaan segar mempunyai diameter 9 sampai 10 μ m. Pada hapusan darah kering, ukuran sel yang pipih bervariasi dari 12 sampai 14 μ m. Jumlah normalnya lebih kurang 2 sampai 4% dari jumlah sel leukosit (Leeson, 1996). Bentuk eosinofil pada hapusan darah dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Deret Eosinofil

Keterangan :

a-e eosinofil : perhatikan, pada sel yang intinya bersegmen tiga, segmen yang ditengah jauh lebih kecil dari segmen yang lain.

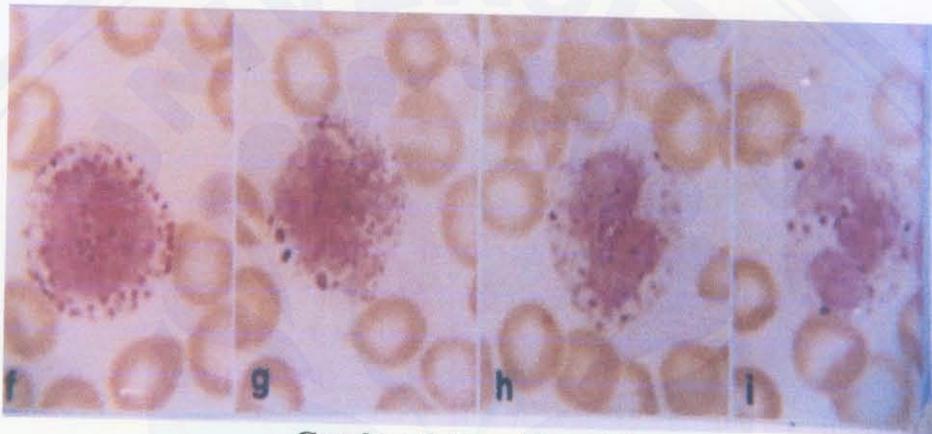
(Sumber : Graigmyle, 1994)

Pematangan eosinofil di dalam sumsum tulang memakan waktu 3 sampai 6 hari sebelum dilepaskan ke sirkulasi darah. Waktu paruhnya sekitar 30 menit setelah masuk sirkulasi, sedangkan di dalam jaringan sekitar 12 hari (Roeslan, 2002). Secara fungsional, eosinofil melakukan banyak hal yang sama : memberi respon terhadap rangsang kemotaktik,

mencernakan bermacam-macam jenis partikel dengan cara fagositosis dan mematikan mikroorganisme tertentu (Price dan Wilson, 1994).

c. Basofil

Sel-sel basofil dalam darah manusia sukar ditemukan karena jumlahnya hanya 0,5 sampai 1% dari jumlah seluruh leukosit. Sel basofil, yang berukuran lebih kurang sama dengan leukosit neutrofil, dalam keadaan segar mempunyai diameter 7 sampai 9 μm sedangkan pada darah hapus kering 10 μm atau lebih (Leeson, 1996). Bentuk basofil pada hapusan darah dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Deret basofil

Keterangan :

f-i basofil : granulanya coklat tua, pada pewarnaan banyak yang larut dan meninggalkan bekas seperti fakuola (h dan i), tersebar tidak merata dalam sitoplasma, ada yang menutupi intinya, ukuran tidak sama (mungkin karena ada sebagian yang terlarut)

(Sumber : Graigmyle, 1994)

Sel-sel ini berasal dari sumsum tulang seperti granulosit lainnya, tetapi mereka mempunyai banyak ciri yang sama dengan sel-sel tertentu dari jaringan penyambung yang disebut sel mast atau basofil jaringan. Granula dari kedua jenis sel ini mengandung berbagai enzim, heparin dan histamin (Price dan Wilson, 1994).

Sel mast dan basofil merupakan sumber histamin, mediator utama reaksi hipersensitivitas tipe cepat. Elaborasi vasoaktif ini dipicu oleh kontak sel ini dengan kompleks antigen-antibodi melalui aktivasi sistem komplemen, sedangkan pelepasannya secara tidak langsung melalui

interaksi antigen dengan imunoglobulin E (IgE) yang terikat pada permukaan membran selnya (Roeslan, 2002)

2.3.3 Leukosit Tikus

Cresscoff dkk menemukan tidak ada perbedaan yang penting pada leukosit untuk perhitungan differential counting pada tikus berdasarkan jenis kelaminnya. Rata-rata jumlah leukosit berkisar 9000 leukosit / μm dengan range berkisar 6000-18000. Vondruska dalam melakukan penghitungan jumlah leukosit pada tikus jantan umur 2,5 bulan dengan rata-rata leukosit 10.000/ μm sedangkan yang betina umur 2,5 bulan rata-rata leukositnya 14.140/ μm .

Neutrofil polimorfonuklear pada mencit berdiameter 11-12 μm dengan satu inti yang terdiri 2-5 lobus yang berbentuk sosis (biasanya 3 lobus). Satu sama lain saling dikaitkan dengan benang-benang halus kromatin, dimana nukleusnya tidak begitu tampak jelas. Granula pada sitoplasma berbintik yang khas meskipun tidak sejelas dengan granula manusia. Disebutkan bahwa jumlah rata-rata neutrofil secara normal pada mencit jantan yang berusia 8-24 minggu adalah antara 15,7-19,4. Pada mencit betina yang berusia 8-14 minggu adalah antara 19,3-23,1 (Academic Press. Inc, 1997).

2.3.4 Hitung Jenis Leukosit

Leukosit dibedakan dengan eritrosit karena leukosit berinti. Pada hitung sel, jumlah sel berinti dianggap sebagai jumlah leukosit. Hitung jenis leukosit menyatakan persentase berbagai jenis leukosit yang ada dalam darah. Hitung jenis ini seringkali diabaikan bila jumlah leukosit normal dan tidak ada kelainan hematologik baik klinis maupun laboratoris, namun demikian banyak kelainan seperti keganasan, inflamasi dan kelainan imunologik menyebabkan perubahan dalam batas normal. Hitung leukosit dapat dilakukan dengan cara menghitung partikel secara elektronik maupun dengan prinsip pembauran cahaya. Cara manual dengan menggunakan hemositometer masih tetap dapat dipercaya bila dilakukan dengan teliti (Widmann, 1995).

Hitung jenis leukosit yaitu menghitung dan mengelompokkan sel darah putih yang tampak di hapusan darah. Biasanya jumlah sel yang dihitung 100 sel. Hitung jenis leukosit mempunyai peranan besar dalam membantu mendiagnosa

penyakit. Dalam keadaan normal hanya ditemukan enam jenis sel darah putih yaitu eosinofil, basofil, stab neutrofil, segmented neutrofil, limfosit dan monosit. Dalam keadaan abnormal pada hitung jenis leukosit dapat ditemukan penyimpangan persentasenya.

Peningkatan persentase eosinofil ditemukan pada kondisi alergi dan infeksi cacing. Peningkatan basofil dapat terjadi pada kondisi leukemia mielositik kronis maupun pada polisitemiavera. Neutrofil mengalami peningkatan pada penyakit influenza dan leukemia limfositik, sedangkan monositosis meningkat pada kondisi demam tifoid, leukemia monositik dan endokarditis bakterial sub akut. (Wintrobe, 1988)

2.4 Hipotesis

1. Stressor rasa sakit dapat menurunkan jumlah leukosit total pada darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar.
2. Stressor rasa sakit dapat merubah hitung jenis leukosit pada darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Dipilih jenis ini karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur, dan pengaruh perlakuan dapat lebih dipercaya (Notoatmojo, 2002). Rancangan penelitian ini adalah The Post Test Only Control Group Design.

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 Identifikasi Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah : Stressor berupa “*electrical foot shock*”

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah : Jumlah Leukosit Total dan hitung jenis leukosit

3.2.3 Variabel Antara

Variabel antara dalam penelitian ini adalah luka bakar.

3.2.4 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- Makanan (lampiran 1) dan minuman tikus *wistar*
- Cara Pemeliharaan
- Prosedur Penelitian
- Besar dan cara pemberian luka bakar

3.3 Definisi Operasional Penelitian

3.3.1 Stressor Rasa Sakit

Stressor rasa sakit adalah stressor fisik yang disebabkan renjatan listrik "*Electrical Foot Shock*". Perlakuan stressor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempeng yang terbuat dari kuningan di dasar kandang perlakuan. Kandang perlakuan terbuat dari bak plastik, bagian atas bertutup kaca mika, pada alas kandang dipasang lempeng yang terbuat dari seng untuk mengalirkan arus listrik. Arus listrik 5 – 30 mA, tegangan 25 V dengan frekuensi 60 Hz.

3.3.2 Luka Bakar

Luka bakar adalah luka yang ditimbulkan logam berbentuk silinder, diameter 10mm yang dipanaskan di atas bunsen selama 30 detik kemudian ditempelkan pada bagian punggung hewan coba tikus selama 5 detik.

3.3.3 Hitung Jumlah Leukosit Total

Leukosit adalah sel yang mengandung inti dimana jumlah leukosit total permilimeter kubik darah dihitung berdasarkan jumlah rata-rata inti leukosit yang terdapat pada satu persegi besar kamar hitung *Improved Neubauer*.

3.3.4 Hitung Jenis Leukosit

Menghitung dan mengelompokkan leukosit menurut jenisnya yang tampak di hapusan darah biasanya jumlah sel yang dihitung 100 sel.

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. Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel dengan menggunakan *Simple Random Sampling*.

b. Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus putih dengan persyaratan sebagai berikut :

- a. Tikus *wistar* berjenis kelamin jantan
- b. Berat 200-250 gram
- c. Berusia 3-4 bulan
- d. Tikus dalam keadaan sehat.

c. Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut (Steel dan Torrie, 1995):

$$n = \left(\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma\rho^2}{\delta^2} \right) \dots\dots\dots (1)$$

keterangan :

- n : Besar sampel minimal
 $Z\alpha$: Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)
 $Z\beta$: 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)
P : Prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,8)
 $P = 1 - \beta$
 β : 0,20

Maka hasil penghitungan besar sampel adalah sebagai berikut :

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

$$n = \left(\frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma\rho^2}{\sigma\rho^2} \right) \Rightarrow (2,81)^2$$

$$n = 7,896$$

$$n = 8$$

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

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

- a. *Electrical Foot Shock* (Sumintarti, 1997 dalam Asnar, 2001)
- b. Kandang yang terbuat dari ember plastik persegi empat berukuran 41 x 32 x 11 cm dengan tutup dari anyaman kasa.
- c. Tempat makan dan minum untuk tikus.
- d. Timbangan untuk menimbang tikus (Neraca Ohaus, *Germany*)
- e. Gunting bedah
- f. Sarung tangan (Latex)
- g. Mikroskop Binokuler (Leica, *USA*)
- h. Kamar hitung (*Improved Neubauer*)
- i. Obyek Glass dan Glass Penghapus
- j. Pipet *Pasteur*
- k. Pipet *volumetrik*
- l. Pipet pengencer dari *Thoma* untuk leukosit
- m. Tabung reaksi ukuran 75 x 10 mm (Pyrex, *Japan*) dan rak tabung reaksi
- n. *Disposable syringe* (Terumo, *Japan*)
- o. Logam berukuran 5x5 mm
- p. Masker
- q. Stopwatch (Diamond, *Cina*)
- r. Jarum Fiksasi
- s. Pinset
- t. Bunsen
- u. *Blade Scalpel*

3.5.2 Bahan

- a. Tikus *wistar* jantan
- b. Makanan standar untuk tikus *wistar* yang beredar di pasaran yaitu jenis konsentrat produksi Feedmill Malindo, Gresik.
- c. Pengecatan memakai cat dari *Romanowsky* yaitu *Giemsa* (Merck, *Germany*)
- d. Larutan amonium oksalat 1%
- e. Minyak *emersi* (Merck, *Germany*)

- f. Digunakan larutan pengencer adalah larutan *Turk*.
- g. EDTA
- h. Eter

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

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

3.6.2 Tahap perlakuan pada hewan coba

- a. Hewan coba tikus *wistar* dengan berat 200-250 gram dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I adalah kelompok kontrol (-), kelompok II adalah kelompok kontrol (+) dan kelompok III adalah kelompok perlakuan, masing-masing sebanyak 8 ekor.
- b. Kelompok perlakuan diberi stressor renjatan listrik selama 7 hari. Stressor berupa *electrical foot shock* dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng dari kuningan di dasar kandang perlakuan tempat kaki tikus berpijak. Aliran arus listrik pada kaki akan mengejutkan tikus. Besar tegangan listrik 25V dengan 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 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 stressor tidak dapat atau tidak mudah diadaptasi.

- c. Pada hari ketujuh, kelompok kontrol (+) dan kelompok perlakuan dicukur bulu punggungnya selebar lebih kurang 10mm, kemudian logam berbentuk silinder, diameter 10mm yang dipanaskan di atas bunsen selama 30 detik kemudian ditempelkan pada bagian yang dicukur tersebut selama 5 detik.
- d. Hari ke 8, hewan coba dikorbankan dan dilakukan pengambilan darah intrakardial.

3.6.3 Hitung Jumlah Leukosit Total

a. Membuat Pengenceran

Tahap pengenceran diuraikan pada lampiran 2

b. Mengisi kamar hitung

Mengisi kamar hitung diuraikan pada lampiran 2

c. Menghitung jumlah sel

Menghitung jumlah sel diuraikan pada lampiran 2

d. Penghitungan

Penghitungan jumlah leukosit total diuraikan pada lampiran 2

3.6.4 Hitung Jenis Leukosit (Differential Count)

a. Pembuatan Hapusan Darah

Pembuatan hapusan darah diuraikan pada lampiran 3

b. Pengecatan Hapusan Darah

Pengecatan hapusan darah diuraikan pada lampiran 3

c. Pemeriksaan Hapusan Darah

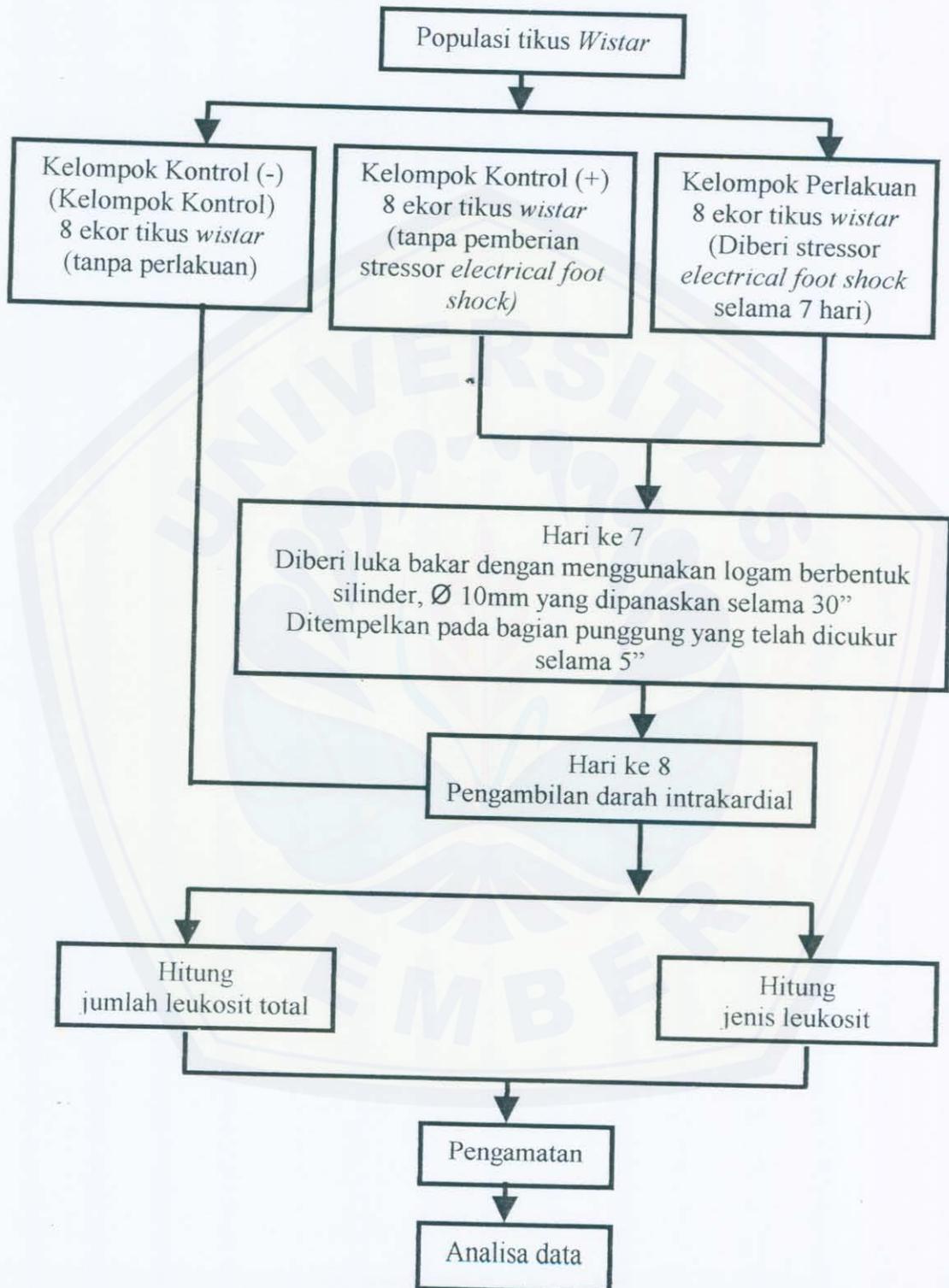
Pemeriksaan hapusan darah diuraikan pada lampiran 3

3.7 Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian ditabulasi dengan menggunakan uji parametrik *Oneway ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk melihat perbedaan diantara ketiga kelompok



3.8 Skema Penelitian



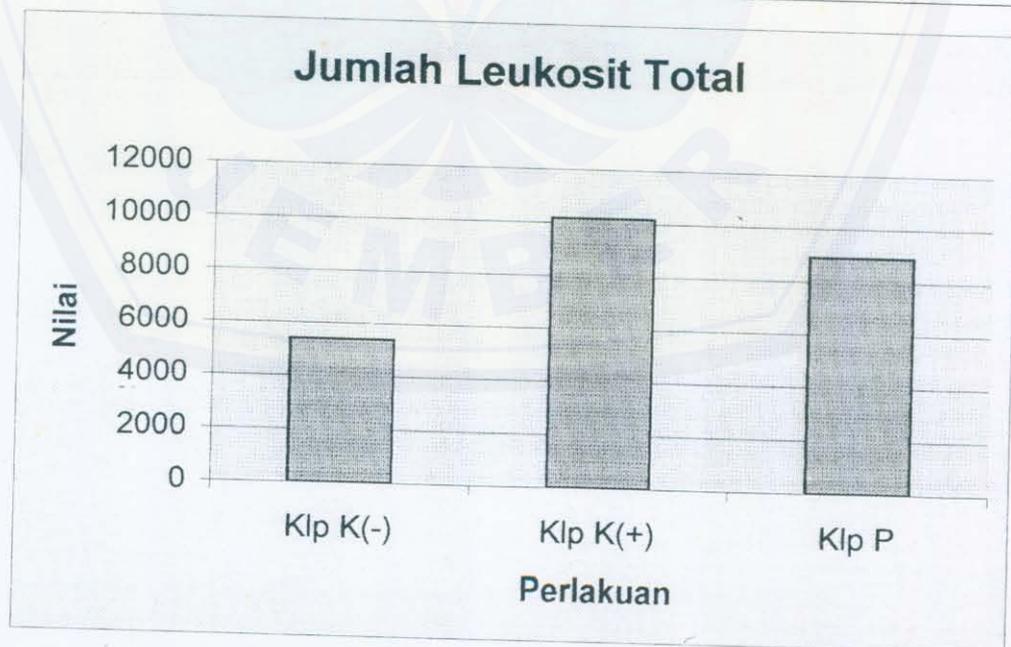
BAB IV
HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil.

Perhitungan jumlah leukosit total dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember dengan jumlah sampel sebanyak 27 ekor tikus *wistar* jantan. Nilai pada salah satu sampel terlalu mencolok, sehingga untuk menyeragamkan data hanya diambil 24 ekor tikus *wistar* jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok. Hasil pada kelompok kontrol (-) rata - rata 5400/ μ l, kelompok kontrol (+) rata - rata 9375/ μ l dan kelompok perlakuan rata-rata 7362,50/ μ l. Hasil perhitungan jumlah leukosit total dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Jumlah Leukosit Total Pada Sampel Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan Akibat Stressor Rasa Sakit.

No	Kelompok	N	X \pm SD
1.	Kontrol (-)	8	5400 \pm 891,23
2.	Kontrol (+)	8	9375 \pm 584,93
3.	Perlakuan	8	7362,5 \pm 641,29

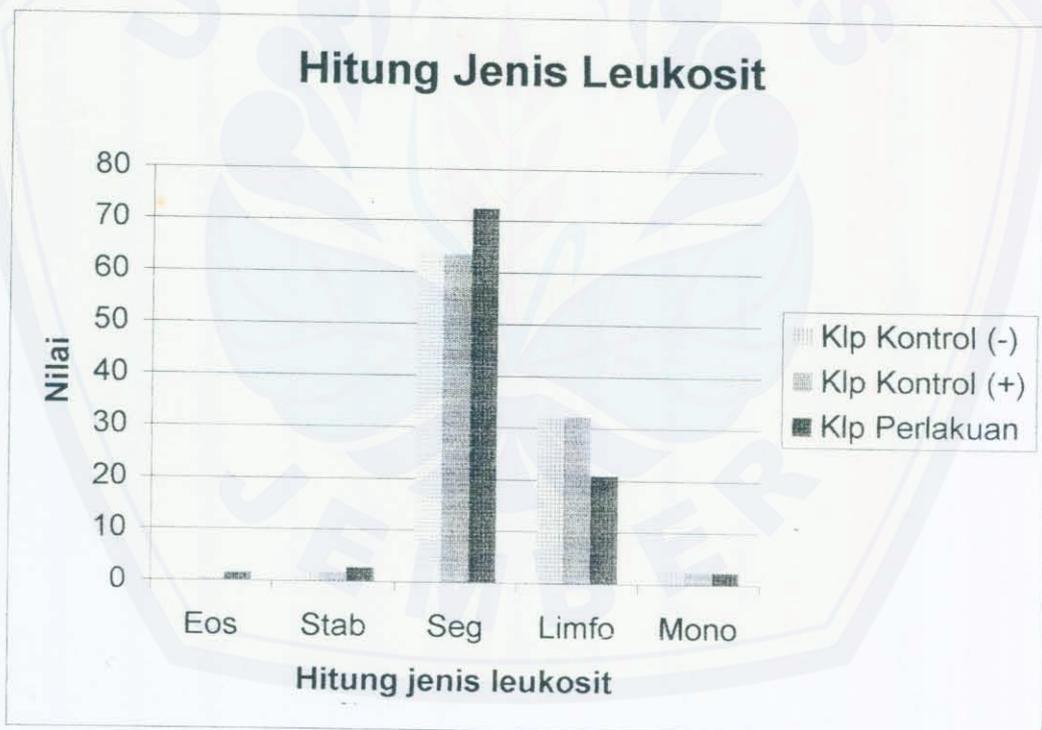


Gambar 7. Histogram rata-rata jumlah leukosit total pada kelompok Kontrol (-), kelompok Kontrol (+) dan kelompok Perlakuan

Data yang diperoleh merupakan hasil penghitungan jumlah leukosit total . Selanjutnya dianalisa dengan menggunakan metode statistik parametrik yaitu analisa varian satu arah kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan*.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Hitung Jenis Leukosit Pada Sampel Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan Akibat Stressor Rasa Sakit .

No	Kelompok	X ± SD				
		Eos	Stab	Seg	Limfo	Mono
1.	Kontrol (-)	0,38 ± 0,52	1,63 ± 0,52	63,50 ± 2,62	32,00 ± 3,02	2,50 ± 0,53
2.	Kontrol (+)	0,50 ± 0,53	1,63 ± 0,52	63,38 ± 2,67	32,13 ± 3,04	2,38 ± 0,52
3.	Perlakuan	1,63 ± 0,92	2,75 ± 0,71	72,38 ± 3,46	20,88 ± 5,08	2,36 ± 1,06



Gambar 8. Histogram rata-rata hitung jenis leukosit kelompok kontrol (-), kelompok kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan.

Data yang diperoleh merupakan hasil penghitungan hitung jenis leukosit .

4.2 Analisa Data

Sebelum dilakukan uji analisa varian satu arah terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal dan uji homogenitas varian untuk menguji berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi – populasi tersebut sama.

Kemudian untuk uji homogenitas data jumlah leukosit total ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas Kelompok Kontrol (-), Kelompok Kontrol (+) dan Kelompok Perlakuan Jumlah leukosit Total

Levene's Statistic	df 1	df 2	Sig.
2,131	2	21	0,144

Keterangan :

Lavene's Test = Taraf kepercayaan

df = Derajat bebas kelompok perlakuan

Sig = Probabilitas untuk $p > 0,05$

Berdasarkan uji statistik homogenitas jumlah leukosit total $p = 0,144$. Karena nilai probabilitas $> 0,05$ berarti ragam dari semua perlakuan adalah sama (homogen).

Kemudian uji statistik yang dilakukan untuk jumlah leukosit total adalah uji parametrik yaitu dengan uji analisa varian 1 arah dengan kemaknaan $p = 0,05$ yang ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penghitungan Anova Satu Arah Jumlah Leukosit Total

	F	Sig.
Jumlah Leukosit Total	61,259	0,000

Keterangan :

F = Taraf Kepercayaan

Sig = Probabilitas untuk $p > 0,05$

Berdasarkan hasil analisa varian 1 arah maka diperoleh jumlah leukosit total $p = 0,000$ ($p < 0,05$), berarti terdapat perbedaan bermakna antara kelompok.

Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan pada masing – masing variabel dilakukan uji Duncan yang ditampilkan pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji Duncan Jumlah Leukosit Total

Perlakuan	N	Subset untuk $\alpha = 0,05$		
		1	2	3
Klp Kontrol (-)	8	*5400,00		
Klp Kontrol (+)	8		*7362,50	
Klp Perlakuan	8			*9375,00

Keterangan : * berbeda makna

Uji Duncan Jumlah leukosit total menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol (-) rata-rata 5400,00 , kelompok kontrol (+) rata-rata 9375,00 dan kelompok perlakuan rata-rata 7362,50.

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratoris yang dilaksanakan di laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Universitas Jember. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh stressor rasa sakit terhadap perubahan-perubahan pada sel darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar. Berpedoman pada penelitian Sumintarti (1997), pemberian stressor rasa sakit berupa “*electrical foot shock*” yaitu dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng kuningan di dasar kandang perlakuan tempat kaki tikus berpijak. Pemberian luka bakar dimaksudkan untuk menimbulkan respons imun terhadap jejas dengan pengeluaran sel-sel radang.

Setelah dilakukan pengamatan kemudian diuji statistik, didapatkan perbedaan yang bermakna pada jumlah leukosit total antara kelompok kontrol (-), kelompok kontrol (+) yaitu kelompok dengan pemberian luka bakar, dan kelompok perlakuan yaitu kelompok dengan pemberian *electrical foot shock* dan luka bakar.

Peningkatan jumlah leukosit total kelompok kontrol (+) dan kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol (-) kemungkinan disebabkan adanya pelepasan mediator peradangan selama terjadinya luka bakar. Salah satunya adalah metabolit asam arakhidonat yang berasal dari fosfolipase membran sel yang dapat mempengaruhi pergerakan leukosit. Fosfolipase A_2 akan meningkat sehingga jumlah leukosit dalam sirkulasi juga akan meningkat (Robbins, 1995).

Peningkatan jumlah leukosit total kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol (-) disebabkan oleh karena pemberian luka bakar dan stressor *electrical foot shock*. Kelompok perlakuan diberi stressor *electrical foot shock* selama tujuh hari yang akan menyebabkan peningkatan sekresi ACTH dalam waktu beberapa menit saja dan akibatnya sekresi glukokortikoid (kortisol) akan sangat meningkat sehingga dapat menurunkan sel – sel radang dalam darah (Sulistiyani, 2003). Sebaliknya pemberian luka bakar pada hari ketujuh akan menyebabkan reaksi peradangan yang dapat menyebabkan peningkatan sel – sel radang dalam

peredaran darah menyebabkan jumlah leukosit total meningkat. Sehingga jumlah leukosit kelompok perlakuan akan meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol (-).

Jumlah leukosit total mengalami penurunan pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol (+). Kelompok kontrol (+) yang diberi stressor *electrical foot shock* selama tujuh hari kemungkinan dapat menyebabkan keadaan stres melalui perubahan respons imun melalui aksis otak-pituitari-adrenal (Putra, 1999 dalam Asnar, 2001).

Stressor *electrical foot shock* dapat menyebabkan peningkatan sekresi glukokortikoid. Glukokortikoid yang disekresi dalam jumlah besar akan mensupresi aktivitas sistem imun. Semua leukosit mempunyai reseptor glukokortikoid, sedangkan reseptor dikendalikan oleh otak, maka otak mempunyai peran dalam supresi. Karena otak merupakan pengontrol produksi glukokortikoid, maka otak bertanggungjawab pada pengaruh supresi sistem kekebalan imunologi (Notosoedirdjo, 1998 dalam Asnar, 2001). Glukokortikoid mempengaruhi pergerakan dan fungsi leukosit. Mereka menghambat fosfolipase A_2 sehingga mengganggu pergerakan leukosit dalam sirkulasi, akibatnya jumlah leukosit dalam sirkulasi akan menurun (Baxter, 1998).

Pengamatan yang dilakukan pada hitung jenis leukosit didapatkan adanya perubahan pada masing-masing jenis leukosit. Perubahan pada kelompok kontrol (-) terhadap kelompok kontrol (+) tidak berbeda nyata, sebaliknya perubahan pada kelompok kontrol (-) dan kelompok kontrol (+) berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan.

Nilai pada kelompok kontrol (+) tidak mengalami perubahan yang bermakna terhadap kontrol (-). Hal ini disebabkan luka bakar yang diberikan pada kelompok kontrol (+) hanya sebagai perantara untuk melihat respons imun terhadap jejas dengan pengeluaran sel-sel radang. Oleh karena itu luka bakar tidak memberikan pengaruh terhadap hitung jenis leukosit.

Nilai pada kelompok perlakuan mengalami perubahan yang bermakna terhadap kelompok kontrol (-), dimana kelompok perlakuan diberi stressor *electrical foot shock* dan pemberian luka bakar. Stressor *electrical foot shock* pada

kelompok perlakuan dapat meningkatkan prosentase eosinofil dan neutrofil dalam darah. Peningkatannya dapat terjadi pada beberapa keadaan, yaitu sebagai respons fisiologis terhadap stres, infeksi, kelainan metabolik, dan lain-lain. Sedangkan pemberian luka bakar akan merangsang sel – sel radang untuk melakukan fagositosis, sehingga neutrofil dan eosinofil akan meningkat. Sehingga pemberian kedua perlakuan tersebut akan dapat meningkatkan prosentase eosinofil dan neutrofil dalam darah.

Sebaliknya pemberian stressor *electrical foot shock* pada kelompok perlakuan dapat menurunkan prosentase limfosit dan monosit. Penurunan limfosit dan monosit disebabkan glukokortikoid mempengaruhi sistem sirkulasi sel darah putih dan dapat menimbulkan limfopenia (terutama sel Th yang turun) dan monositopenia. Efek tersebut dapat terjadi oleh karena perubahan dalam pelepasan sel dari sumsum tulang dan pengeluaran dari sirkulasi (Baratawijaja, 1996). Pemberian luka bakar pada hari ketujuh tidak dapat mempengaruhi penurunan prosentase limfosit dan monosit, meskipun luka bakar dapat menimbulkan reaksi peradangan, namun stressor *electrical foot shock* memberikan pengaruh lebih besar dalam menurunkan sistem kekebalan tubuh. Sehingga jumlah limfosit dan monosit kelompok perlakuan mengalami penurunan terhadap kelompok kontrol (-).

Nilai pada kelompok kontrol (+) mengalami perubahan yang bermakna terhadap kelompok perlakuan. Kedua kelompok sama-sama diberi luka bakar pada hari ketujuh dimana luka bakar dimaksudkan hanya untuk melihat respons imun terhadap jejas. Pemberian stressor *electrical foot shock* pada kelompok perlakuan dapat meningkatkan ataupun menurunkan prosentase hitung jenis leukosit.

Peningkatan eosinofil dan neutrofil dapat terjadi pada keadaan stres. Eosinofil diduga dapat meningkat karena peningkatan glukokortikoid yang menyebabkan perubahan perilaku sel Th dan lebih mengarah ke Th2, kemudian Th2 melalui IL-4 yang dikeluarkan, meningkatkan respons alergi. Sebagai kompensasi untuk meredam alergi, eosinofil dalam sirkulasi mengalami peningkatan (Sulistiyani, 2003).

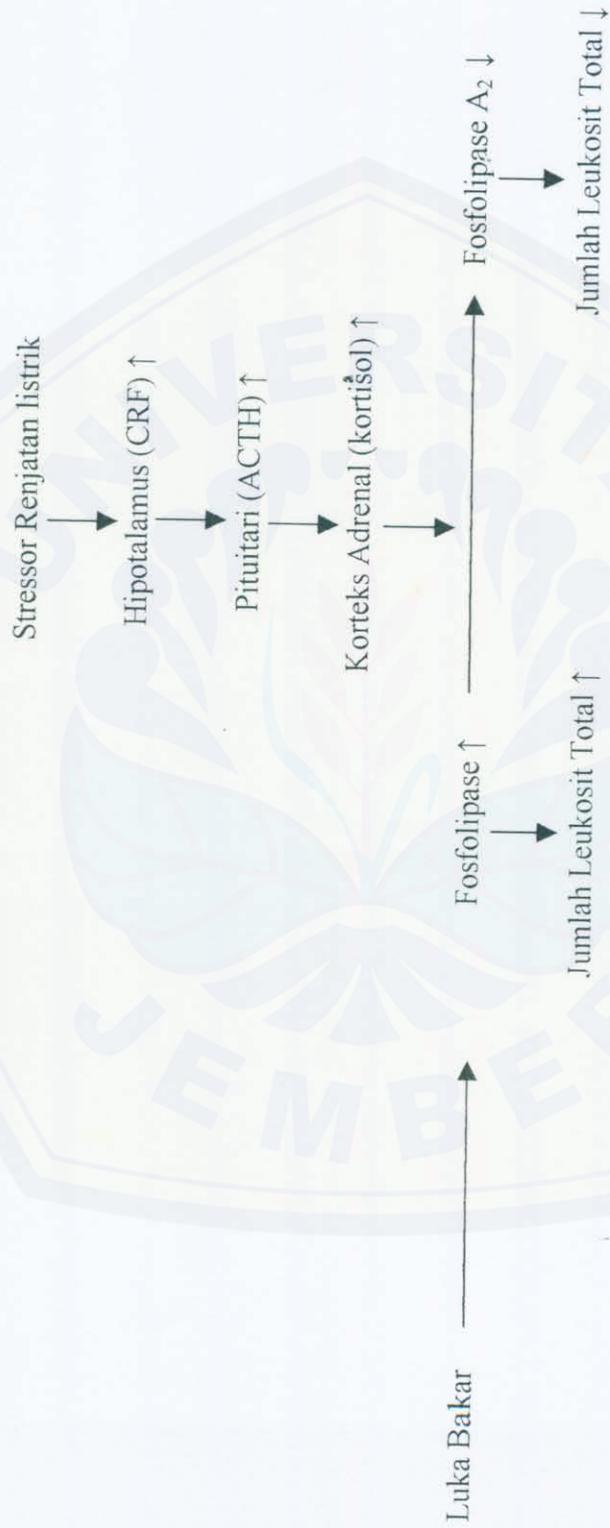
Meningkatnya neutrofil kemungkinan karena kortikosteroid yang dilepaskan selama pemberian stressor *electrical foot shock* akan mengakibatkan neutrofilia. Hal ini adalah "pseudoleukosis". Diduga peningkatan kortisol ini menyebabkan neutrofil di *Marginal Granulocyte Pool* (MGP) menurun dan aliran kedalam *Circulating Granulocyte Pool* (CGP) meningkat mengakibatkan neutrofil meningkat dalam sirkulasi (Hoffbrand, 1996). Leukosis neutrofil pada keadaan stres dapat terjadi oleh karena dilepaskannya jumlah ekstra adrenalin dan hormon kortikosteroid dari korteks adrenal. Prosesnya dikontrol dari kelenjar pituitari dan hipotalamus otak (Spector, 1993).

Sedangkan limfosit dan monosit akan menurun karena glukokortikoid yang disekresi dalam jumlah banyak dapat menekan jumlah limfosit T sehingga mengubah keseimbangan limfosit T serta mengganggu maturasi limfosit B menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi (Ganong, 1995). Jumlah monosit dalam sirkulasi juga akan berkurang karena glukokortikoid memicu penyebaran kembali (redistribusi) sel-sel keluar dari sirkulasi dari kelompok intravaskuler ke kelompok resirkulasi ekstravaskuler yang dapat menyebabkan monositopenia sementara (Bellianti, 1995).

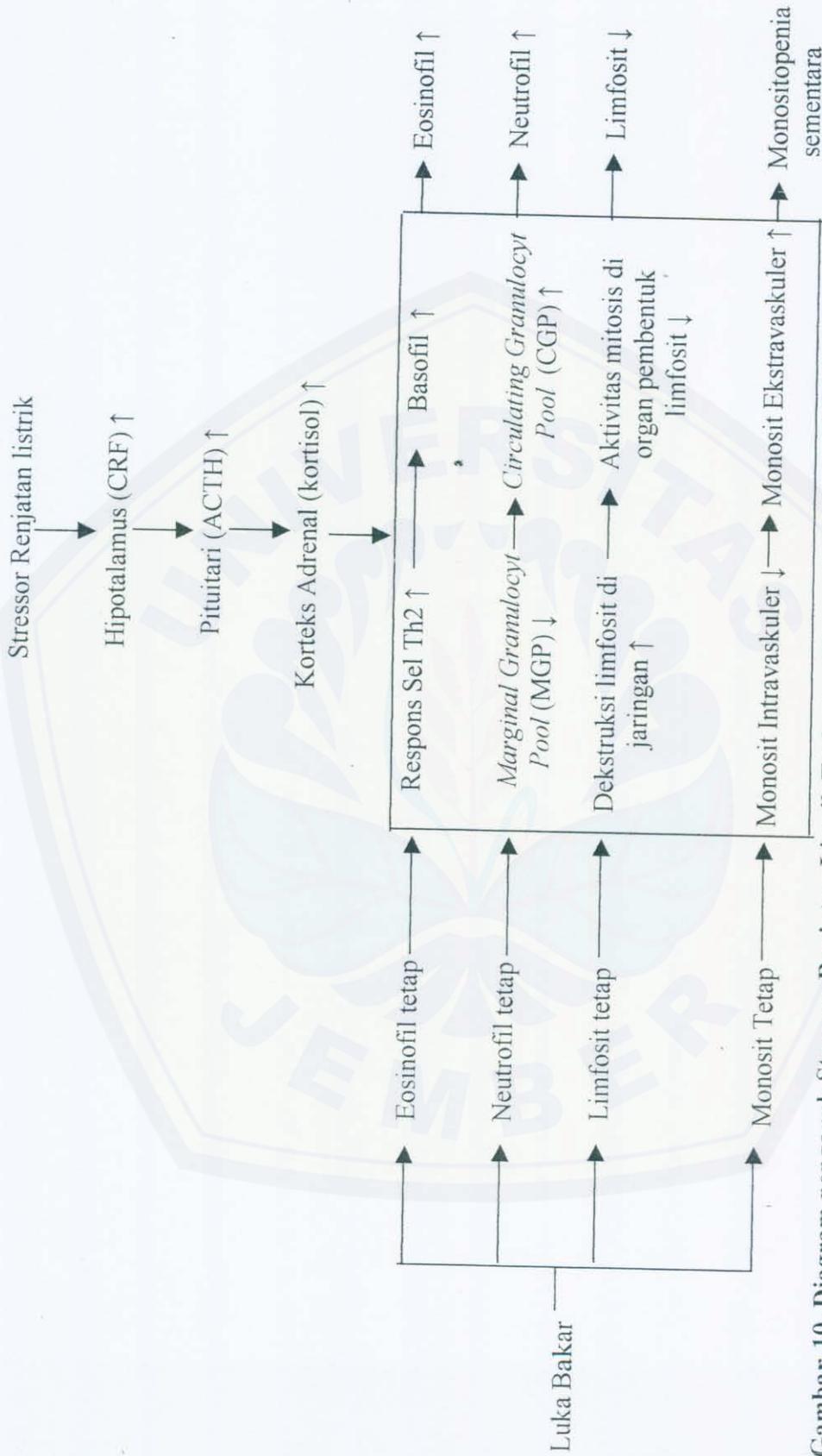
Dari uraian diatas dapat diketahui bahwa stres dapat mempengaruhi jumlah leukosit total dan hitung jenis leukosit darah tepi. Secara singkat dapat diuraikan sebagai berikut. Menurunnya jumlah leukosit darah yang disebabkan stres dapat mempengaruhi pelepasan hormon *Adrenocorticotropic Hormon* (ACTH) dari pituitari. Hal ini akan melepaskan glukokortikoid yang bekerja immunosupresif. Glukokortikoid mempengaruhi pergerakan dan fungsi leukosit. Pada hitung jenis leukosit, neutrofil meningkat dipengaruhi oleh peningkatan kortisol yang menyebabkan penurunan migrasi neutrofil dari pembuluh darah sehingga aliran masuk neutrofil ke dalam sirkulasi darah dari sumsum tulang meningkat. Peningkatan eosinofil kemungkinan disebabkan peningkatan kadar kortisol yang mengakibatkan perubahan pada sel Th2 melalui IL-4 yang dikeluarkan memicu aktivitas basofil menyebabkan eosinofil meningkat sebagai kompensasi terhadap alergi. Kemungkinan penyebab menurunnya jumlah limfosit karena peningkatan kortisol akibat stressor renjatan listrik meningkatkan

dekstruksi jaringan sehingga aktivitas mitosis limfosit menurun dan terjadi penurunan proliferasi limfosit. Monosit akan menurun sementara akibat stressor renjatan listrik kemungkinan disebabkan oleh kortisol yang merangsang pengeluaran monosit dari intravaskuler ke ekstrasvaskuler. Mekanisme kerja stres dapat digambarkan pada Gambar 9 dan Gambar 10.





Gambar 9. Diagram pengaruh Stressor Renjatan Listrik Terhadap Jumlah Leukosit Total Pada Tikus *wistar* Yang Diberi Luka Bakar



Gambar 10. Diagram pengaruh Stressor Renjatan Listrik Terhadap Hitung Jenis Leukosit Pada Tikus wistar Yang Diberi Luka Bakar

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Stressor rasa sakit berupa renjatan listrik dapat menurunkan jumlah leukosit total darah tepi pada tikus *wistar* yang diberi luka bakar.
2. Stressor rasa sakit berupa renjatan listrik dapat merubah prosentase eosinofil, stab neutrofil, segmen neutrofil, limfosit dan monosit pada hitung jenis darah tepi tikus *wistar* yang diberi luka bakar.

6.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis dapat memberikan saran sebagai berikut :

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk selanjutnya menggunakan variabel yang berbeda.
2. Penelitian lebih lanjut disarankan menggunakan jenis stressor yang berbeda.
3. Disarankan untuk penelitian selanjutnya menggunakan metode pemeriksaan yang lebih baik, sehingga hasilnya dapat lebih akurat.
4. Perlu disampaikan kepada masyarakat tentang dampak stres terhadap sistem imun tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Academic Press. 1997. *The laboratory Rat Vol. I*. London : Academic Press Inc.
- Anonim. 1996. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. Jakarta: Balai Penerbitan FKUI.
- Anonim. 2000. *Hidup Sehat bagi Eksekutif : Stres, Seks dan Kebugaran*. Jakarta : PT Kompas Media Nusantara.
- 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 Psiconeuroimunologi*. Disertasi program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: Universitas Airlangga
- Bagnara J.T, Turner C.D. 1988. *Endokrinologi Umum*. Yogyakarta : Airlangga University Press.
- Baker, Hj. JR. 1980. *The Laboratory Rat. Vol I Research Application*. Sandiego Academic Press, Inc.
- Dewanti, I.D.A.R dan Iin Elyana. 2003. "Kelelahan Menurunkan Jumlah Sel Radang Pada Luka Traumatik Rongga Mulut". Dalam *Majalah kedokteran Gigi (Dent.J) Edisi Khusus Temu Ilmiah kedokteran III 6-9 Agustus 2003*. Hal 448-450. Surabaya: FKG Unair.
- de Jong, Win. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta : EGC.
- Ganong, William F. 1998. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 17. Jakarta : EGC.
- Graigmyle, M. B. L. 1994. *Atlas Berwarna Histologi*. Penerjemah: Tan Tamboyang dari "A Colour Atlas of Histology". Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGF.
- Guyton AC, 1996. *Texbook of Medical Physiology. 9th.Ed*. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
- Hawari, Dadang. 1996. *Al Qur`an : Ilmu Kedokteran Jiwa dan Kesehatan Jiwa*. Jakarta : Dana Bhakti Prima Yasa.
- Howe, Geoffrey L. 1992. *Anestesi Lokal*. Jakarta : Hipokrates.

- Janqueira L. C. J dan Jose Garneiro. 1998. *Histologi Dasar*. Edisi 8. Terjemahan Jan Tamboyang dari "Basic Histology, 1995". Jakarta: EGC.
- Leeson, C. Roland, Thomas S. Leeson dan Anthony A Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Terjemahan Staf Ahli Histologi FKUI dari *Textbook of Histology* (1985). Edisi 5. Jakarta : EGC.
- Lubis, W.H. 2000. "Kebisingan, Pengaruhnya terhadap Kesehatan". Dalam *dentika Majalah Ilmiah kedokteran Gigi*. Vol 5. No . Hal 47-52. Sumatera Utara : FKG USU.
- Manson, J.G., B.M. Eley. 1993. *Buku ajar Periodonti*. Terjemahan Anastasia dari *Out Line of Periodontics* (1989). Jakarta : Hipokrates.
- Mappiare, A.T. 1992. *Pengantar Konseling and Psikoterapi*. Edisi 1. Jakarta : Rajawali.
- Maramis, W. F. 1980. *Ilmu Kedokteran Jiwa*. Airlangga University Press.
- Moenadjat, Y. 2000. *Luka Bakar; Penatalaksanaan Awal dan Penatalaksanaanya*. Jakarta : FKUI.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi revisi. Jakarta : penerbit Rineka Pustaka
- Price, Sylvia Anderson and Wilson, L. McCarty. 1994. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit*. Edisi 4. Jakarta : EGC.
- Putra, S.T. 1993. "Peran Dan Penerapan Konsep Psikoneurologi Dalam Sport Medicine". Dalam *Lustrum II Program Pasca Sarjana UNAIR*. Surabaya: Unair.
- Quade, W.MC dan A.Aikmann. Alih bahasa : Stella, 1991. *Stress*. Bandung: Erlangga.
- Riduwan. 2003. *Dasar-dasar Statistik*. Bandung : Alfa – Beta.
- Roeslan, B.O. 2002. *Imunologi Oral*. Jakarta: fakultas kedokteran Universitas Indonesia.
- Setiamiharja, S. 1995. *Kumpulan Kuliah Ilmu Bedah*. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Fisiologi Manusia : dari Sel ke Sistem*. Edisi 2. Jakarta : EGC.

- 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 Procedures of Statistics, 1960*". Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Suharmiati, Maryani, H. 2003. "*Mengatasi Stress dengan Aroma Terapi*". Dalam *Medika Majalah Kedokteran dan Farmasi*. No. 11. Nopember 2003. Hal 745. Jakarta
- Sulistiyani, E. 2003. "*Mekanisme Eksaserbasi Reccurent Aphthous Stomatitis Yang Dipicu Oleh Stressor Psikologis*". Dalam *Majalah kedokteran Gigi (Dent.J)* edisi Khusus temu Ilmiah kedokteran III 6-9 Agustus 2003. Hal 334-337. Surabaya : FKG UNAIR
- Sumintarti, 1997. "*Pengaruh Asap Rokok dan Stres Terhadap Respons Imun Mencit. Penelitian Eksperimental Laboratorium*". Disertasi program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Widmann, F. K. 1995. *Tinjauan Klinis Atas hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Edisi 9. Terjemahan bagian Patologi Klinik FKUI/RSCM. Judul Asli: "*Clinical Intrepetation of laboratory Test, 1989*". Jakarta : EGC.
- Winata, Cornel Prawira. 1996. *Dasar-dasar dalam Luka Bakar*. Jakarta : IDI.
- Wintrobe, M. M., Lee, G.R., Bithel, T.C, Athens J.W., Lukens, J.N. 1981. *Clinical Hematology*. Edisi 8. Philadelphia : Lea and Febiger.

Lampiran 1. 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