



**PENURUNAN JUMLAH MAKROFAG PADA GINGIVA
TIKUS WISTAR JANTAN SETELAH TERPAPAR
STRESOR RASA SAKIT**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S 1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:

Humayra Pohan

NIM. 071610101071

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Erna Sulistyani, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Dwi Merry Ch., M.Kes

**BAGIAN ORAL MEDICINE
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**PENURUNAN JUMLAH MAKROFAG PADA GINGIVA
TIKUS WISTAR JANTAN SETELAH TERPAPAR
STRESOR RASA SAKIT**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S 1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:

Humayra Pohan

NIM. 071610101071

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Erna Sulistyani, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Dwi Merry Ch., M.Kes

**BAGIAN ORAL MEDICINE
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tuaku yang tercinta, Bunda drg. Hj. Betty Nurbaiti dan Buya Ir. H. Pahlawan Rizal atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya;
2. Adik-adikku yang tersayang, Hamas, Hadziq, Hisyam, dan Huwaydah Pohan yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;
3. Dosen-dosen pembimbing skripsi drg. Erna Sulistyani, M.Kes, drg. Dwi Merry Ch., M.Kes, dan drg. Iin Eliana T., M.Kes.
4. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua.” (Aristoteles)

“Tugas kita bukanlah untuk berhasil. Tugas kita adalah untuk mencoba, karena didalam mencoba itulah kita menemukan dan belajar membangun kesempatan untuk berhasil.” (Mario Teguh)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Humayra Pohan

NIM : 071610101071

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul : “Penurunan Jumlah Makrofag pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Setelah Terpapar Stresor Rasa Sakit” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 Februari 2012

Yang menyatakan.

Humayra Pohan

071610101071

SKRIPSI

**PENURUNAN JUMLAH MAKROFAG PADA GINGIVA
TIKUS WISTAR JANTAN SETELAH TERPAPAR
STRESOR RASA SAKIT**

Oleh

Humayra Pohan
NIM. 071610101071

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Erna Sulistyani, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Dwi Merry Ch., M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Penurunan Jumlah Makrofag pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Setelah Terpapar Stresor Rasa Sakit* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 1 Februari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

drg. Erna Sulistyani, M.Kes
NIP. 196711081996012001

Anggota I

Anggota II

drg. Dwi Merry Ch., M.Kes
NIP. 197712232008122002

drg. Iin Eliana T., M.Kes
NIP. 197512022003122001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP 195909061985032001

Ringkasan

“Penurunan Jumlah Makrofag pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Setelah Terpapar Stresor Rasa Sakit”; Humayra Pohan 071610101071 ; 2012; 50 halaman ; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Stres adalah respon yang tidak spesifik dari tubuh pada tiap tuntutan yang dikenakan pada seseorang. Stresor yang merupakan penyebab stres diantaranya adalah rasa sakit. Respon terhadap stresor yang berjalan kronik, memproduksi hormon yang dapat mengacaukan pengaturan fungsi imun, khususnya pada sistem imun alami. Sistem imun alami yang diteliti adalah makrofag, mengingat makrofag adalah sistem pertahanan tubuh yang terdepan. Penelitian mengenai hubungan stres dengan sistem imun masih sangat sulit, oleh karena itu digunakan pendekatan *Medico Physiological Approach*, dimana dengan pendekatan ini, penelitian mengenai stres dapat dilakukan secara eksperimental dengan hewan coba .

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya penurunan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor rasa sakit. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post pest only control group design*.

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi stresor renjatan listrik *electrical foot shock*, selama dua minggu. Setelah itu, tikus dikorbankan dan diambil *attached gingivanya*, kemudian dibuat sediaan histologis, dan diamati dibawah mikroskop binokuler, serta dilakukan penghitungan jumlah makrofag.

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan *Levene's test* menunjukkan bahwa semua data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$). Hasil analisis data dengan *T-Test* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol

dengan kelompok perlakuan, dan terjadi penurunan jumlah makrofag pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah, stresor rasa sakit menyebabkan penurunan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan, yang pada akhirnya menurunkan sistem imun alami rongga mulut.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan karunia dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul Pengaruh Stresor Rasa Sakit terhadap Sistem Imun Alami Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Orang tuaku yang tercinta, Bunda drg. Hj. Betty Nurbaiti dan Buya Ir. H. Pahlawan Rizal atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya.
2. drg. Hj. Herniyati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes, Sp. Pros. Selaku pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
4. drg. Erna Sulistyani, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
5. drg. Dwi Merry Ch., M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
6. drg. Iin Eliana T., M.Kes. selaku Dosen Penguji, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
7. drg. Ekiyantini Widyowati, M.Kes selaku dosen pembimbing akademik.
8. Adik-adikku yang tersayang, Hamas, Hadziq, Hisyam, dan Huwaydah Pohan yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus.
9. Staf Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember, Mas Agus, Staf Laboratorium Histologi Universitas Jember, Mas Bagus dan Mbak Wahyu.

10. Sahabat-sahabatku Febriani Nur Indra M.S., Edietya Ratrie Putri, Risha L. Salam, Ririn Indah P., Amelia Ratna A., dan seluruh keluarga kost Antique yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
11. Teman-teman seperjuangan dalam penelitian, Desiana, Paulina, Zefri, Adel, Chandra, Wiwik, Amel, dan Rizan.
12. Teman-teman FKG 2007 dan juga semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu;

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan karya penulis selanjutnya.

Jember, 1 Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Stres	3
2.1.1 Definisi Stres	3
2.1.2 Stresor	4
2.1.3 Stresor Rasa Sakit akibat Renjatan Listrik.....	4
2.1.4 Perubahan di Rongga Mulut Akibat Stres	6
2.2 Sistem Imun	6
2.2.1 Sistem Imun Alami	6

2.2.2 Makrofag	8
2.2.3 Sistem Imun Adaptive	13
2.2.4 Sistem Imun Gingiva	14
2.3 Interaksi Stres dengan Sistem Imun	16
2.4 Hipotesis	17
2.5 Kerangka Konseptual.....	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Jenis, Waktu, dan Tempat Penelitian	20
3.1.1 Jenis Penelitian	20
3.1.2 Waktu Penelitian	20
3.1.3 Tempat Penelitian	20
3.2 Variabel Penelitian	20
3.2.1 Variabel Bebas	20
3.2.2 Variabel Terikat	20
3.2.3 Variabel Terkendali	21
3.3 Definisi Operasional	21
3.3.1 Stresor Rasa Sakit.....	21
3.3.2 Gingiva.....	21
3.3.3 Jumlah Makrofag	21
3.4 Populasi, Kriteria, dan Besar Sampel.....	22
3.4.1 Populasi.....	22
3.4.2 Kriteria Sampel.....	22
3.4.3 Besar Sampel.....	22
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	23
3.5.1 Alat	23
3.5.2 Bahan	23
3.6 Prosedur Penelitian	23
3.6.1 Tahap Persiapan Hewan Coba	23
3.6.2 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba.....	24

3.6.3 Tahap Preparasi Jaringan Gingiva.....	25
3.6.4 Tahap Pewarnaan.....	28
3.7 Tahap Pengamatan	30
3.8 Analisis Data	30
3.9 Alur Penelitian	31
BAB.4 HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil	32
4.2 Analisis Data	35
4.3 Pembahasan	36
BAB. 5 PENUTUP	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR BACAAN	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
a. Rata-rata jumlah sel makrofag pada kelompok kontrol dan perlakuan dari seluruh lapang pandang pada tiap sampel.	32
b. Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dari rata-rata jumlah makrofag pada tiap-tiap kelompok	35
c. Hasil uji homogenitas <i>Levene's test</i> dari rata-rata jumlah makrofag pada tiap-tiap kelompok	36
d. Hasil uji T-test dari rata-rata jumlah makrofag pada tiap-tiap kelompok	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Alat “Electrical Foot Shock”	5
2.1 Sel Makrofag	9
4.1 Grafik perbandingan jumlah sel makrofag kelompok kontrol dan perlakuan	33
4.2 Epitel gingiva tikus wistar jantan (pembesaran 40x)	33
4.3 Sel makrofag pada sediaan gingiva tikus wistar jantan (pembesaran 1000x) pada kelompok kontrol	34
4.4 Sel makrofag pada sediaan gingiva tikus wistar jantan (pembesaran 1000x) pada kelompok perlakuan.	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Analisis Data	46
B. Alat dan Bahan Penelitian	49

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan zaman, timbul berbagai masalah yang berupa tuntutan-tuntutan pada diri manusia. Hal ini disebabkan perubahan sosial dan proses modernisasi yang biasanya diikuti oleh perkembangan teknologi, perubahan tatanan hidup serta kompetisi antar individu yang makin berat, yang pada akhirnya mengakibatkan terjadinya stres. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengungkap perubahan sistem imun pada keadaan stres, namun perubahan sistem imun rongga mulut pada keadaan stres belum banyak diteliti.

Manifestasi dari stres dapat berbeda pada masing-masing individu (Amir, 2005). Pada sebagian individu yang mengalami stres dapat menimbulkan penyakit di rongga mulutnya dan sebagian lainnya tidak. Stres sendiri masih dirasa sangat subyektif, oleh karena status emosi juga menentukan fungsi sistem kekebalan (Setyonegoro, 2005). Hal tersebut menyebabkan, penelitian mengenai hubungan stres dengan sistem imun masih sangat sulit untuk diteliti.

Menurut *Medico Physiological Approach*, stres adalah efek fisiologis tubuh terhadap stimuli yang mengancam. Menurut pendekatan ini, apapun jenis stresornya, reaksi tubuh adalah sama (Sulistiyani, 2003). Melalui pendekatan tersebut, maka penelitian mengenai stres dapat dilakukan secara eksperimental dengan hewan coba (Asnar 2001).

Dari hal tersebut di atas, maka peneliti ingin melakukan penelitian tentang stress pada sistem imun alami rongga mulut. Stresor yang dipakai adalah stressor rasa sakit dengan menggunakan *electrical foot shock* (Triwahyudi, 2010), karena intensitasnya dapat terukur, penjalaran arus listrik cepat, dan tidak ada efek ikutan setelah dilakukan renjatan listrik. Tikus wistar jantan digunakan sebagai obyek dalam penelitian ini, karena tikus adalah mamalia yang secara fisiologis hampir sama

dengan manusia. Jaringan gingiva dipilih oleh karena gingiva memiliki sistem pertahanan tubuh yang cukup baik dan cukup kompleks (Efendi, 2003). Makrofag dipilih oleh karena merupakan sistem pertahanan tubuh yang terdepan, yang pertama kali merespon adanya stresor (Gunawan dan Sumadiono, 2007).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat penurunan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor rasa sakit?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui adanya penurunan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor rasa sakit.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada masyarakat agar melakukan upaya pencegahan penyakit dengan cara mengelola stres.
2. Memberikan informasi ilmiah tentang penurunan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor rasa sakit.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi Stres

Stres adalah keadaan internal yang dapat diakibatkan oleh tuntutan fisik dari tubuh atau oleh kondisi lingkungan dan sosial yang dinilai potensial membahayakan, tidak terkendali atau melebihi kemampuan individu untuk melakukan *coping* (upaya untuk memecahkan masalah dan mentolerir stres atau konflik). Stres mengacu pada peristiwa yang dirasakan membahayakan kesejahteraan fisik dan psikologis seseorang. Situasi ini disebut sebagai penyebab stres atau stresor dan reaksi individu terhadap situasi stres ini disebut sebagai respon stres (Atkinson, 2000).

Stres diawali dengan reaksi waspada terhadap adanya ancaman, yang ditandai oleh proses tubuh secara otomatis seperti meningkatnya denyut jantung, yang kemudian diikuti dengan reaksi penolakan terhadap stresor dan akan mencapai tahap kehabisan tenaga jika individu tidak mampu bertahan (Bell, 1996).

Menurut pendekatan *Medicophysiological*, stres diartikan sebagai efek fisiologis tubuh terhadap stimuli yang mengancam, jadi stres merupakan variabel tergantung. Menurut pendekatan ini, maka stresor dapat fisik maupun psikis dan apapun jenis stresornya, reaksi tubuh adalah sama (Sulistiyani, 2003). Melalui pendekatan tersebut, maka penelitian mengenai stres dapat dilakukan secara eksperimental dengan hewan coba. Stresor yang sudah banyak digunakan dalam penelitian adalah stresor rasa nyeri berupa renjatan listrik yang didapat dari *Electrical Foot Shock* (Asnar, 2001).

2.1.2 Stresor

Stresor adalah kondisi fisik, lingkungan, dan sosial yang merupakan penyebab stres. Stresor dapat berwujud atau berbentuk fisik, seperti polusi udara dan dapat juga berikatan dengan lingkungan sosial, seperti interaksi sosial (Morgan et al., 1989).

Stresor dibedakan atas 3 golongan yaitu :

1. Stresor fisikbiologik : dingin, panas, infeksi, rasa nyeri, dan lain-lain.
2. Stresor psikologis : takut, khawatir, cemas, marah, kekecewaan, kesepian, dan lain-lain.
3. Stresor sosial budaya : menganggur, perceraian, perselisihan dan lain-lain (Gunawan dan Sumadiono, 2007).

2.1.3 Stresor Rasa Sakit akibat Renjatan Listrik

1) Stresor Rasa Sakit

Stresor rasa sakit menyebabkan nyeri atau gangguan sensasi yang menyakitkan atau menekan perasaan. Rasa sakit akibat renjatan listrik adalah suatu nyeri pada saraf sensori yang diakibatkan aliran listrik yang mengalir secara tiba-tiba melalui tubuh. Bahaya renjatan listrik sangat besar, tubuh akan mengalami *ventricular fibrillation* (denyutan ventrikel yang cepat dan tidak efektif), kemudian diikuti dengan kematian (Gabriel, 1996). Reaksi rasa sakit adalah istilah yang digunakan untuk mendeskripsikan integrasi dan apresiasi rasa sakit pada sistem saraf sentral di korteks dan thalamus posterior (Howe dan Whitehead, 1992).

2) Renjatan Listrik

Rejatan listrik akan menimbulkan stres pada individu, stresor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respon imun yaitu melalui “aksis otak-pituitari-adrenal” (Notosoedirdjo, 1999).

Alat yang digunakan adalah *electrical foot shock*. Alat tersebut berupa lempengan logam yang diletakkan pada dasar kandang dan dihubungkan dengan

adaptor arus listrik. Cara penggunaannya adalah, tikus diletakkan pada kandang yang diberi tutup, kemudian adaptor dinyalakan dan tombol ditekan selama kurang lebih dua detik untuk mengalirkan arus listrik, kemudian tombol dilepaskan dan adaptor dimatikan.



Gambar 2.1 Alat *electrical foot shock*.

Pemberian stres listrik dengan *electrical foot shock* menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah (Suminarti, 1997). Sitokin berperan dalam sistem imunitas dengan merangsang atau menghambat proliferasi sel-sel pengaturan aktifitas proliferasi, diferensiasi, maturasi dan kematian sel. Sitokin juga sangat penting sebagai regulator pada komunikasi seluler, memegang peranan sentral pada perkembangan dan penyembuhan jaringan serta pada imunitas dan inflamasi (Djamal dan Winiati, 1999).

3) Jalur stresor Renjatan Listrik

Renjatan listrik mempengaruhi fungsi sistem imun, selain dapat melalui jalur humoral dan cairan tubuh juga dapat melalui saraf. Cairan tubuh dapat meneruskan sinyal listrik karena cairan tubuh merupakan volume konduktor yang baik (Guyton, 1996).

2.1.4 Perubahan di Rongga Mulut Akibat Stres

Stres seringkali menimbulkan perubahan di dalam rongga mulut. Stres merupakan salah satu faktor yang dapat memicu timbulnya infeksi. Ancaman terhadap homeostasis ini meliputi gangguan sistem imun, sistem endokrin dan saraf. Pada sistem imun yang terganggu akan terjadi perubahan fungsi imun, khususnya pada respon imun seluler yang ikut berperan dalam proses penyembuhan (Seyle, 1982), sehingga dapat menyebabkan resorpsi tulang, kerusakan jaringan, kehilangan perlekatan, serta dapat menghambat penyembuhan luka (William, 2008).

Stres juga dapat menimbulkan rasa sakit di sekitar mulut, saat seseorang mengalami stress, cenderung mulut menggeretak dan menyebabkan tekanan berlebihan pada area mulut, sehingga menyebabkan sakit pada area sekitar mulut dan menimbulkan beberapa penyakit seperti sariawan dan angular cheilitis. Diikuti dengan meningkatnya hormon kortisol saat stress yang akan melemahkan sistem perlindungan tubuh dan memudahkan bakteri menyerang gingiva, pada akhirnya gingiva mengalami pendarahan dan menimbulkan ulcer pada gingiva (William, 2008).

2.2 Sistem Imun

Keutuhan tubuh dipertahankan oleh sistem kekebalan tubuh. Sistem kekebalan tubuh terdiri atas sistem imun alami (*non spesifik /innate /native*) dan spesifik (*adaptive / acquired*) (Janeway et al., 1999 dan Chapel et al., 1999).

2.2.1 Sistem imun alami

Sistem imun alami dapat memberikan respon langsung terhadap antigen, sistem ini disebut nonspesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroorganisme tertentu. Komponen sistem imun alami terdiri atas pertahanan fisik dan mekanik, biokimiawi, humoral dan seluler (Chapel et al., 1999).

Dalam sistem pertahanan fisik dan mekanik, kulit, mukosa, silia saluran nafas, batuk dan bersin akan mencegah masuknya berbagai kuman patogen ke dalam tubuh.

Adapun bahan yang disekresi mukosa saluran nafas, kelenjar sebaceous kulit, telinga, spermin dalam semen mengandung bahan yang berperan dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi (Abbas et al., 1999). Pertahanan alami / non spesifik terdiri atas berbagai bahan seperti komplemen, interferon, fagosit (makrofag, neutrofil), *tumor necrosis factor* (TNF) dan *C-Reactive protein* (CRP) (Janeway et al., 1999).

Komplemen berperan meningkatkan fagositosis (opsonisasi) dan mempermudah destruksi bakteri dan parasit. Interferon menyebabkan sel jaringan yang belum terinfeksi menjadi tahan virus. Di samping itu interferon dapat meningkatkan aktifitas sitotoksik *Natural Killer Cell* (sel NK). Sel yang terinfeksi virus atau menjadi ganas akan menunjukkan perubahan di permukaannya sehingga dikenali oleh sel NK yang kemudian membunuhnya (Janeway et al., 1999 dan Chapel et al., 1999).

Natural Killer Cell (sel NK) adalah sel limfoid yang ditemukan dalam sirkulasi dan tidak mempunyai ciri sel limfoid dari sistem imun spesifik, sehingga disebut sel non B non T (sel NBNT) atau sel populasi ke tiga. Sel NK dapat menghancurkan sel yang mengandung virus atau sel neoplasma (Janeway et al., 1999; Chapel et al., 1999; dan Abbas et al., 1999).

Fagosit atau makrofag dan sel NK berperan dalam sistem imun nonspesifik seluler. Dalam kerjanya sel fagosit juga berinteraksi dengan komplemen dan sistem imun spesifik. Penghancuran kuman terjadi dalam beberapa tingkat, yaitu kemotaksis, menangkap, memakan (fagositosis), membunuh dan mencerna (Abbas et al., 1999).

2.2.2 Makrofag

1) Definisi Makrofag

Makrofag merupakan sel fagosit yang hampir ditemui pada setiap organ di seluruh tubuh, terutama pada jaringan ikat longgar. Makrofag termasuk *mononuclear fagosit system*, yang merupakan suatu sistem yang dulu disebut dengan *Reticulo Endothelial System* (RES). Ini merupakan istilah bersama untuk sel-sel yang sangat fagositik yang tersebar luas diseluruh tubuh terutama pada daerah yang kaya akan pembuluh darah (Efendi, 2003).

2) Perkembangan Makrofag

Makrofag terutama berasal dari sel prekursor dari sumsum tulang, dari promonosit yang akan membelah menghasilkan monosit yang beredar dalam darah. Pada tahap kedua monosit bermigrasi kedalam jaringan ikat tempat mereka menjadi matang dan inilah yang disebut makrofag (makro=besar+phagen=makan). Di dalam jaringan makrofag dapat berproliferasi secara lokal menghasilkan sel sejenis lebih banyak.

Pada penelitian yang terutama menggunakan sel berlabel radioaktif didapatkan bahwa kebanyakan bahkan mungkin semua, sel fagositik ini berasal dari promonosit sel mononuclear yang berasal dari sumsum tulang. Jadi nama yang paling cocok untuk sistem ini adalah sistem fagosit mononuklear atau lebih sederhana sistem makrofag.

Sel-sel sistem makrofag terdapat pada:

1. jaringan ikat longgar berupa makrofag atau histiosit
2. di dalam darah berupa monosit
3. di dalam hati melapisi sinusoid dikenal sebagai sel Kupffer
4. makrofag perivaskuler sinusoid limpa, limfonodus, dan sumsum tulang
5. pada susunan saraf pusat berupa mikroglia yang berasal dari mesoderm.

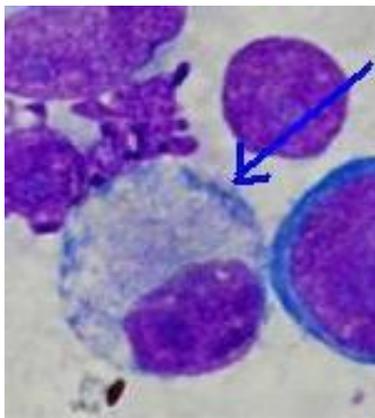
(Efendi, 2003).

3) Fagositosis

Fagositosis merupakan suatu istilah yang secara harfiah berarti sel makan dapat dipersamakan dengan pinositosis yang berarti sel minum. Fagositosis merupakan suatu proses atau cara untuk memakan bakteri atau benda asing yang dilakukan setelah benda asing atau bakteri melekat pada permukaan makrofag maka makrofag membentuk sitoplasma dan melekok ke dalam membungkus bakteri atau benda tersebut. Tonjolan sitoplasma yang saling bertemu itu akan melebur menjadi satu sehingga benda asing atau bakteri akan tertangkap di dalam sebuah vakuol fagositik intra sel. Lisozom yang merupakan suatu sistem pencernaan intra sel dengan kemampuan memecah materi yang berasal dari luar maupun dari dalam. Jadi lisozom akan menyatu dengan vakuol, dengan demikian akan memusnahkan bakteri atau benda asing tersebut (Efendi, 2003).

4) Bentuk dan Sifat Makrofag

Secara histologis makrofag memiliki bentuk yang ameboid (bentuknya tidak tetap), serta memiliki inti sel yang relatif besar. Plasmanya agranulosit atau tidak mengandung granula (butiran). Ukuran sel makrofag yaitu $\pm 9-12 \mu\text{m}$ dan jumlahnya hanya sedikit (Teacher Online, 2011).



Gambar 2.2. Sel makrofag.
(Sumber : <http://therios.strefa.pl/przypadki/przyp10.html>)

Fagosit mononukleus memiliki ciri morfologis dengan spektrum luas berdasarkan keadaan aktifitas fungsional dan jaringan yang dihuni. Makrofag dapat terfiksasi atau mengembara. Makrofag ini mengembara bergerak dengan mempergunakan gerakan amuboid, gerakan amuboid ini juga terjadi jika ada rangsangan. Dengan mikroskop elektron terlihat permukaan makrofag tidak teratur, kaki palsu yang terjulur ke segala arah. Membran plasma berlipat-lipat dan mengandung tonjolan dan lekukan. Nukleus mengandung kromatin padat, berbentuk bulat, lebih kecil, nukleoli tidak mencolok, sitoplasma terpulsa gelap dan sedikit mengandung vakuol kecil yang secara supra vital (pewarnaan pada sel yang masih hidup dan tidak difiksasi) dengan merah netral.

Sel makrofag ini terdapat sebagai makrofag bebas dan makrofag tetap. Makrofag bebas merupakan sel yang mampu bergerak bebas, ditemukan pada jaringan interstisial berupa makrofag dan histiosit. Sedangkan makrofag tetap, tidak mampu bergerak sekeleluasa makrofag bebas, ditemukan pada jaringan interstisial limpa, kelenjar limfe, dan dalam hepar.

Fagositosis dibantu juga dengan permukaan yang berlipat-lipat. Umumnya mempunyai aparatus golgi yang berkembang baik. Di samping lisosom dan sebuah retikulum endoplasma kasar yang jelas. Pada proses transformasi monosit ke makrofag terdapat peningkatan sintesis protein dan ukuran sel, juga terdapat peningkatan kompleks golgi, lisosom mikrotubul dan mikro filamen.

Makrofag juga berperan pada reaksi imunologis tubuh, dengan menelan memproses, dan menyimpan antigen dan menyampaikan informasi kepada sel-sel berdekatan secara imunologis kompeten (limfosit dan sel plasma). Makrofag mempunyai reseptor yang mengikat antibodi dan makrofag bersenjata demikian sanggup mencari dan menghancurkan antigen yang khas terhadap antibodi itu. Selama proses infeksi limfosit – T yang terangsang menghasilkan sejumlah limfokin yang menarik makrofag ketempat yang membutuhkannya dan terus mengaktifkannya. Makrofag berukuran 10 – 30 mm, bentuk tidak teratur, inti lonjong atau bentuk ginjal

letak eksentrik, mengandung granula azurofilik. Makrofag merupakan sel yang panjang umurnya dapat bertahan berbulan-bulan dalam jaringan.

Bila cukup dirangsang sel-sel ini dapat bertumbuh besar, membentuk sel epiteloid (yn epi=diatas + thele = putting + eidos = seperti sel) atau beberapa melebur menjadi sel datia (sel raksasa) multinukleus, jenis-jenis sel yang ditemukan dalam keadaan patologis. Makrofag kadang-kadang mempunyai bentuk yang sangat tidak teratur dengan kaki-kaki palsu yang terjulur keseluruh arah, membran plasma yang melipat-lipat dan bertonjolan kecil-kecil. Keadaan permukaan demikian itu membantu perluasan fagositosis dan gerakan sel (Efendi, 2003).

5) Fungsi dari makrofag

Karena sifat fagositik atau gerakan amuboidnya mereka aktif dalam pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme, memiliki reseptor untuk immunoglobulin pada membran selnya.

Makrofag mempunyai fungsi antara lain :

1. fungsi utama adalah melahap partikel dan mencernakannya oleh lisosom dan mengeluarkan sederetan substansi yang berperan dalam fungsi pertahanan dan perbaikan
2. dalam sistem imun tubuh, sel ini berperan serta dalam mempengaruhi aktivitas dari respon imun, mereka menelan, memproses dan menyimpan antigen dan menyampaikan informasi pada sel-sel berdekatan (limfosit dan sel plasma)
3. makrofag yang aktif juga merupakan sel sektori yang dapat mengeluarkan beberapa substansi penting, termasuk enzim-enzim, lisozim, elastase, kolagenase, dua protein dari sistem komplemen dan gen anti virus penting, interveron (Efendi, 2003).

6) Pewarnaan Makrofag

Makrofag pada sediaan jaringan longgar jelas dapat dilihat dengan karbon koloid atau zat warna koloid, seperti biru tripan atau tinta India yang disuntik secara vital sitoplasma terpulask gelap dan mengandung vakuol kecil yang terpulask secara supra vital dengan merah netral yang akan tampak dalam mikroskop cahaya (Efendi, 2003).

Penelitian ini menggunakan pewarnaan Hematoxilin Eosin, dimana inti yang bersifat asam akan menarik zat / larutan yang bersifat basa sehingga akan berwarna biru / ungu. Sedangkan, sitoplasma bersifat basa akan menarik zat / larutan yang bersifat asam sehingga berwarna merah / pink (Wulandari, 2011).

Suatu penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek fagositosis sel makrofag terhadap trypan blue. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui bagaimana mekanisme pertahanan tubuh (makrofag terhadap benda asing) (Ahmad Hosen 1996). Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan tikus putih strain LMR jantan dan betina dewasa.

Semua tikus putih kelompok perlakuan yang mendapat suntikan trypan blue badannya berwarna biru setelah satu jam suntikan, warna biru ini secara bertahap akan meningkat sampai akhir perlakuan masih bertahan ditubuhnya. Hal ini disebabkan perwarnaan difus jaringan tertentu dan terbentuknya granul dalam makrofag.

Fagositosis sel makrofag terjadi secara bertahap dan mekanisme fagositosis dipengaruhi oleh faktor ekstrinsik dan faktor instrinsik. Daya fagositosis maksimum dicapai setelah 2 (dua) hari suntikan trypan blue. Hal berikutnya daya fagositosis sel makrofag mulai berkurang (Efendi, 2003).

2.2.3 Sistem imun *adaptive*

Sistem imun *adaptive* / spesifik terdiri atas sistem imun spesifik humoral dan selular. Yang berperan dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B yang jika dirangsang oleh benda asing akan berproliferasi menjadi sel plasma yang dapat membentuk antibodi (imunoglobulin). Selain itu juga berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cells (APC)* (Janeway et al., 1999; Chapel et al., 1999; dan Abbas et al., 1999).

Limfosit T atau sel T berperan dalam sistem imun spesifik selular yang berfungsi sebagai regulator dan efektor. Fungsi regulasi terutama dilakukan oleh sel T *helper* (sel TH, CD4+) yang memproduksi sitokin seperti interleukin-4 (IL-4 dan IL-5) yang membantu sel B memproduksi antibodi, IL-2 yang mengaktivasi sel-sel CD4, CD8 dan IFN yang mengaktifkan makrofag. Fungsi efektor terutama dilakukan oleh sel T sitotoksik (CD8) untuk membunuh sel-sel yang terinfeksi virus, sel-sel tumor, dan *allograft*. Fungsi efektor CD4+ adalah menjadi mediator reaksi hipersensitifitas tipe lambat pada organisme intraseluler seperti *Mycobacterium tuberculosis* (Janeway et al., 1999; Chapel et al., 1999; Putra, 1991; dan Abbas et al., 1999).

Pada keadaan tidak homeostasis, bangkitnya respon imun ini dapat merugikan kesehatan, misal pada reaksi autoimun atau reaksi hipersensitifitas (alergi). Beberapa penyakit seperti diabetes melitus, sklerosis multipel, lupus, artritis rematoid termasuk contoh penyakit autoimun. Kondisi ini terjadi jika sistem imun disensitisasi oleh protein yang ada dalam tubuh kemudian menyerang jaringan yang mengandung protein tersebut. Mekanisme terjadinya masih belum jelas (Chapel et al., 1999; Putra, 1991; dan Abbas et al., 1999).

2.2.4 Sistem Imun Gingiva

1) Deskuamasi Epitel dan Keratinisasi

Secara kontiniu pada epitel berlangsung proses pembaharuan epitel, yang dimulai dari daerah basal menuju ke permukaan luar. Proses ini diikuti oleh deskuamasi epitel yang paling superfisial. Di samping itu, dengan proses keratinisasi terjadi pembentukan lapisan keratin atau parakeratin pada lapisan superfisial dari epitel gingiva. Deskuamasi epitel dalam rangka pembaharuan sel dan pembentukan keratin tersebut merupakan mekanisme pertahanan gingiva yang paling sederhana (Handajani, 2009).

2) Cairan Sulkular

Keberadaan cairan sulkular atau cairan sulkus gingiva sebenarnya masih dipertanyakan, apakah suatu transudat yang secara kontiniu diproduksi, atau merupakan eksudat inflamasi.

Komposisi cairan sulkular adalah :

1. Elemen seluler : bakteri, sel epitel deskuamasi, limfosit (leukosit polimorfonuklear/LPN, limfosit dan monosit)
2. Elektrolit : kalium, natrium, dan kalsium
3. Bahan organik : karbohidrat dan protein
4. Produk metabolik dan produk bakterial : asam laktat, urea, hidroksiprolin, endotoksin, substansi sitotoksik, hidrogen sulfida, dan faktor antibakterial.
5. Enzim : β glukuronidase, yang merupakan enzim lisosomal; dehidrogenase asam laktat yang merupakan enzim sitoplasmik; kolagenase, yang bisa diproduksi oleh fibroblas atau LPN, atau diekskresi oleh bakteri; fosfolipas, suatu enzim lisosomal tetapi yang bisa juga diproduksi oleh bakteri.

Peranan cairan sulkus sebagai mekanisme pertahanan ada 3 yaitu :

1. Aksi membilas
2. Kandungan sel protektif
3. Memproduksi enzim

(Handajani, 2009).

3) Leukosit pada Daerah Dentogingival

Leukosit dijumpai dalam sulkus gingiva yang secara klinis sehat, meskipun dalam jumlah yang sedikit. Leukosit tersebut berada ekstrasvaskular di jaringan dekat ke dasar sulkus. Komposisi leukosit pada sulkus gingiva yang sehat adalah 91,2 % LPN dan 8,5-8,8 % sel mononukleus : terdiri dari 58 % limfosit B, 24 % limfosit T, dan 18 % fagosit mononukleus.

Leukosit yang dijumpai dalam keadaan hidup dan memiliki kemampuan memfagosit dan membunuh. Dengan demikian leukosit pada daerah dentogingival tersebut merupakan mekanisme protektif utama melawan serangan plak ke sulkus gingiva (Handajani, 2009).

4) Saliva

Sekresi saliva bersifat protektif karena jaringan mulut dalam keadaan yang fisiologis. Pengaruh saliva terhadap plak adalah :

1. Aksi pembersihan mekanis terhadap permukaan oral
2. Menjadi buffer bagi asam yang diproduksi bakteri
3. Mengontrol aktivitas bakterial
4. Faktor – faktor antibakterial

Saliva mengandung berbagai bahan anorganik dan organik. Bahan – bahan organiknya meliputi ; ion, gas, bikarbonat, natrium, kalium, posfat, kalsium, fluor, ammonia, dan karbondioksida. Kandungan organiknya antara lain adalah lisosim, laktoferin, mieloperoksidase, laktoperoksidase, aglutinin (seperti glikoprotein, mucin, β 2-makroglobulin, fibronektin) dan antibodi (Handajani, 2009).

2.3 Interaksi Stres dengan Sistem Imun

Stresor pertama kali ditampung oleh pancaindera dan diteruskan ke pusat emosi yang terletak di sistem saraf pusat. Dari sini, stres akan dialirkan ke organ tubuh melalui saraf otonom. Organ yang antara lain dialiri stres adalah kelenjar hormon dan terjadilah perubahan keseimbangan hormon, yang selanjutnya akan menimbulkan perubahan fungsional berbagai organ target. Beberapa peneliti membuktikan stres telah menyebabkan perubahan neurotransmitter neurohormonal melalui berbagai aksis seperti HPA (*Hypothalamic-Pituitary Adrenal Axis*), HPT (*Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis*) dan HPO (*Hypothalamic-Pituitary-Ovarial Axis*). HPA merupakan teori mekanisme yang paling banyak diteliti (Rabin, 1999; Notosoedirdjo, 1999; dan Dhabar, 1993).

Aksis *limbic-hypothalamo-pituitary-adrenal* (LHPA) menerima berbagai *input*, termasuk stresor yang akan mempengaruhi neuron bagian medial *hypothalamus*. Neuron tersebut akan mensintesis *corticotropin releasing hormone* (CRH), yang akan melewati sistem portal untuk dibawa ke hipofisis anterior. Reseptor CRH akan menstimulasi hipofisis anterior untuk mensintesis *adrenocorticotropin hormon* (ACTH) dari prekursornya. Kemudian ACTH mengaktifkan proses biosintesis dan melepaskan glukokortikoid dari korteks adrenal kortison pada rodent dan kortisol pada primata. Steroid tersebut memiliki banyak fungsi yang diperantarai reseptor penting yang mempengaruhi ekspresi gen dan regulasi tubuh secara umum serta menyiapkan energi dan perubahan metabolik yang diperlukan organisme untuk proses *coping* terhadap stresor (Hoshi and Zhou, 1998; Baldwin, 2004; Spencer, 1990; dan Grossman, 1991).

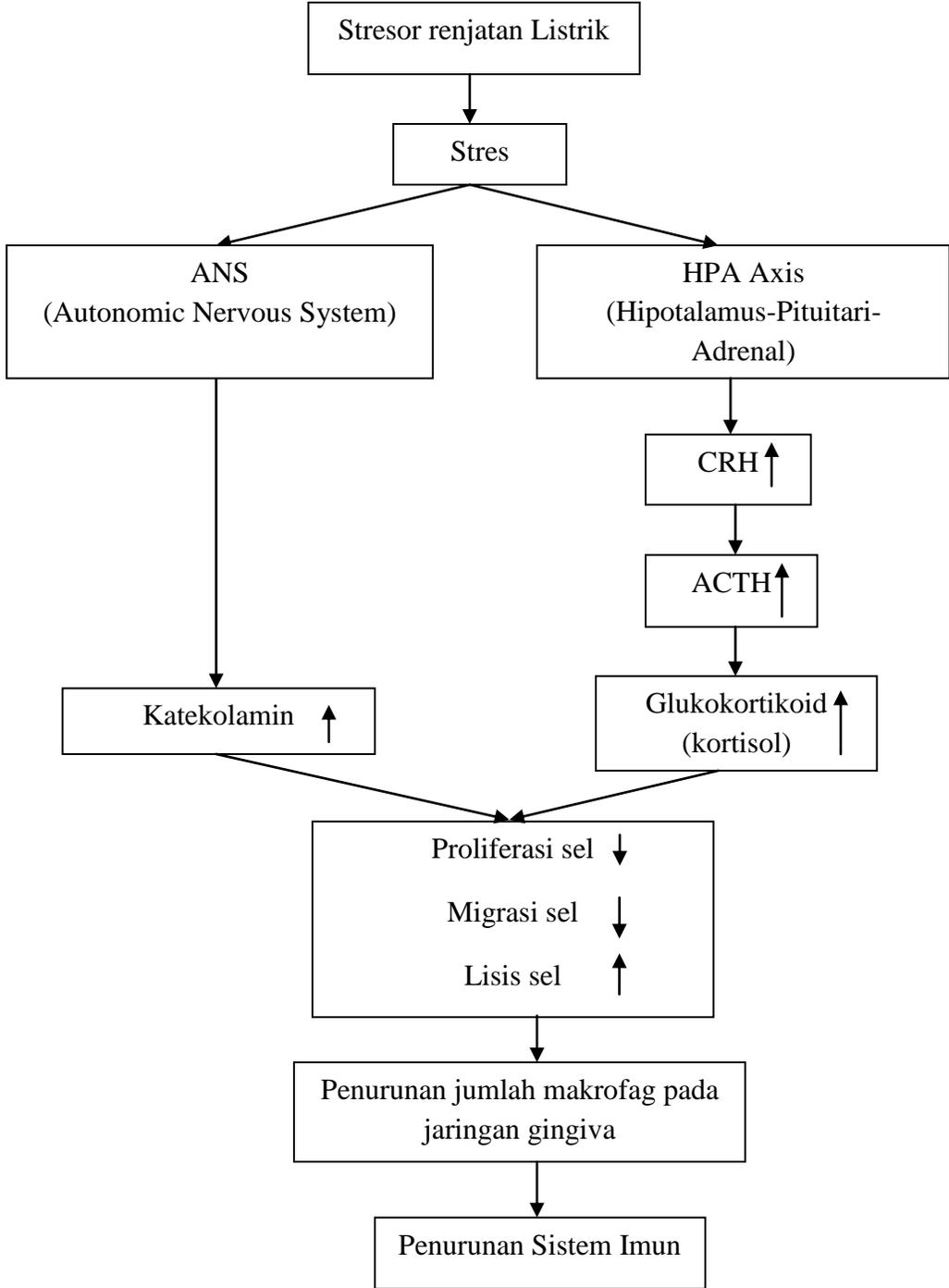
Pada kondisi stres, aksis LHPA meningkat dan glukokortikoid disekresikan. Peningkatan glukokortikoid umumnya disertai penurunan kadar androgen dan estrogen. Karena glukokortikoid dan steroid melawan efek fungsi imun, stres pertama akan menyebabkan baik imunodepresi (melalui peningkatan kadar glukokortikoid) maupun imunostimulasi (dengan menurunkan kadar steroid gonadal) (Hoshi and Zhou, 1998 dan Baldwin, 2004). Karena rasio estrogen androgen berubah maka stres

menyebabkan efek yang berbeda pada wanita dibanding pria. Pada penelitian binatang percobaan, stres menstimulasi respon imun pada betina tetapi justru menghambat respon tersebut pada jantan (Grossman, 1991) Suatu penelitian menggunakan 63 tikus menunjukkan kadar testosteron serum meningkat bermakna dan berahi betina terhadap pejantan menurun (Yoon, 2004).

2.4 Hipotesis

Stresor rasa sakit dapat menurunkan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan.

2.5 Kerangka Konseptual



Stresor renjatan listrik mengakibatkan stres, kemudian memodulasi sistem imun melalui dua jalur, yaitu jalur HPA dan ANS (IYW, 2005). Melalui jalur ANS akan meningkatkan pengeluaran hormon katekolamin. Melalui jalur HPA akan meningkatkan sintesis *corticotropin releasing hormone* (CRH), yang akan menstimulasi hipofisis anterior untuk mensintesis *adrenocorticotropin hormon* (ACTH) dari prekursoranya. Kemudian ACTH mengaktifkan proses biosintesis dan melepaskan glukokortikoid (kortisol) dari korteks adrenal (Hoshi and Zhou, 1998; Baldwin, 2004; Spencer, 1990; dan Grossman, 1991). Kortisol dan katekolamin dapat menyebabkan penurunan proliferasi sel, penurunan migrasi sel, dan peningkatan lisis sel makrofag (William, 2008), yang akan menyebabkan penurunan jumlah sel makrofag pada jaringan gingiva. Penurunan jumlah sel makrofag tersebut pada akhirnya akan berdampak pada penurunan sistem imun.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Waktu, dan Tempat Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*, yaitu data diambil hanya pada saat akhir perlakuan saja (Notoatmodjo, 2002).

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus sampai dengan Oktober 2011

3.1.3 Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dibagi dalam dua tahap :

1. Tahap pertama yaitu tahap perlakuan, dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember
2. Tahap kedua yaitu tahap pemrosesan jaringan dan pengamatan, dilakukan di laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.2 Identifikasi Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Stresor rasa sakit

3.2.2 Variabel Terikat

Jumlah sel makrofag pada sediaan gingiva tikus

3.2.3 Variabel Terkendali

1. Makanan standart dan minuman tikus wistar
2. Cara pemeliharaan tikus
3. Prosedur penelitian
4. Dosis dan voltase pemberian *Electrical Foot Shock*

3.3 Definisi Operasional Penelitian

3.3.1 Stresor Rasa Sakit

Stresor rasa sakit diperoleh dari renjatan listrik berupa alat “*Electrical Foot Shock*”. Perlakuan stresor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempeng yang terbuat dari kuningan di dasar kandang perlakuan. Kandang perlakuan berukuran 41 x 32 x 11cm terbuat dari bak plastik, bagian atas bertutup kaca mika, pada alas kandang dipasang lempeng yang terbuat dari kuningan untuk mengalirkan arus listrik. Arus listrik tegangan rendah pada kuat arus 5-30mAmpere (rata-rata 25 mAmpere), pada tegangan listrik 25 Volt, dengan frekuensi 60 Hz.

3.3.2 Gingiva

Merupakan *attached gingiva* yaitu bagian dari mukosa mulut tikus putih wistar yang meluas dari *groove gingiva* bebas ke pertautan mukongingival dimana akan bertemu dengan mukosa alveolar, yang diambil pada regio bukal posterior kiri dan pemotongan jaringannya arah okluso-apikal.

3.3.3 Jumlah Makrofag

Pengamatan jumlah makrofag pada sediaan histologis dari kedua kelompok tikus tersebut menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 1000x dengan menggunakan *emersen oil xylol tissue lenissa* yang ditetaskan diatas sediaan kemudian dihitung jumlah makrofag. Jumlah makrofag dihitung pada seluruh lapang pandang pada tiga preparat, kemudian dihitung rata-ratanya.

3.4 Populasi, Kriteria, dan Besar Sampel

3.4.1 Populasi

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

3.4.2 Kriteria Sampel

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

1. Tikus *wistar* berjenis kelamin jantan.
2. Berat 200-250 gram.
3. Usia 3-4 bulan.
4. Tikus dalam keadaan sehat secara klinis dan sebelumnya tidak pernah digunakan untuk penelitian.

3.4.3 Besar Sampel

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

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

Keterangan :

n : besar sampel minimal

$Z\alpha$: 1,96

$Z\beta$: 0,85

σD^2 : diasumsikan $\sigma D^2 = \delta^2$

α : tingkat signifikan (0,05)

β : 1-p, $\beta = 20\% = 0,2$

p : tingkat kepercayaan penelitian

α, D, δ : merupakan simpangan baku dari populasi

Didapatkan besar sampel minimal dari rumus di atas yang digunakan dalam penelitian adalah 7,896 yang dibulatkan menjadi 8 untuk masing-masing kelompok (Steel dan Torrie,1995).

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

1. Kandang yang terbuat dari plastik persegi empat berukuran 41 x 32 x 11cm dengan tutup dari anyaman kasa
2. *Electrical Foot Shock*
3. Timbangan untuk menimbang tikus
4. Sarung tangan
5. Gunting bedah
6. Scalpel
7. Peralatan untuk membuat preparat
8. Mikroskop

3.5.2 Bahan

1. Tikus *wistar* jantan
2. Makanan standart tikus *wistar*
3. Minuman untuk tikus *wistar*
4. Jaringan gingiva tikus
5. Bahan pembuat sediaan dan preparat
6. Eter

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

1. Hewan diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Jember selama satu minggu.
2. Tikus diberi makanan standart dan air minum setiap hari secara teratur.
3. Tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak, jumlah tikus perkelompok sesuai dengan besar sampel.

3.6.2 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba

- a. Hewan coba tikus *wistar* jantan dengan berat 200-250 gram sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 2 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 10 ekor dengan perlakuan sebagai berikut :
 - 1) Kelompok I (kontrol)

Tikus *wistar* tanpa pemberian stresor, dikorbankan pada hari ke-15 dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan sampel gingiva untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel makrofag pada seluruh lapang pandang.
 - 2) Kelompok II (perlakuan)

Tikus *wistar* dilakukan pemberian stresor *electrical foot shock*, dikorbankan pada hari ke-15 dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan sampel gingiva untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel makrofag.
- b. Pemberian renjatan listrik pada kelompok perlakuan dengan *electrical foot shock* kuat arus 5-30mAmpere (rata-rata 25 mAmpere), pada tegangan listrik 25 Volt dengan frekuensi 60Hz :

Hari ke -	Jumlah renjatan/sesi	Jumlah sesi
1	4	2
2	8	2
3	10	3
4	12	3
5	14	4
6	16	4
7	18	5
8	20	5
9	22	6
10	24	6
11	26	7
12	28	7
13	30	8
14	32	8

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 ketiga dan seterusnya, peningkatan cukup besar dimaksudkan agar stresor tidak mudah diadaptasi (Asnar, 2001).

3.6.3 Tahap Preparasi Jaringan Gingiva

- a. Pada hari ke-15, tikus dikorbankan dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan margin gingiva gigi posterior bagian bukal. Sampel biopsi minimal 2 mm (lebar), 5 mm (ketebalan) dan 8 mm (panjang), dan

langsung difiksasi. Selama pengamatan sampel harus dipegang dengan pinset anatomis.

b. Jaringan dimasukkan ke dalam larutan fiksasi (formalin 10%), untuk mencegah terjadinya degenerasi, dengan volume 20 ml selama 24 jam.

c. Jaringan kemudian didehidrasi (penarikan air dari dalam jaringan) dalam konsentrasi alkohol yang ditingkatkan. Tahapan dehidrasi :

- 1) Alkohol 70% : (\pm 15 menit)
- 2) Alkohol 80% : 1 jam
- 3) Alkohol 95% : 2 jam
- 4) Alkohol 95% : 1 jam
- 5) Alkohol 100% : 1 jam
- 6) Alkohol 100% : 1 jam
- 7) Alkohol 100% : 1 jam

d. Proses selanjutnya yaitu *clearing* atau penjernihan dengan Xylol.

Tahapan *clearing*:

- 1) Xylol : 1 jam
- 2) Xylol : 2 jam
- 3) Xylol : 2 jam

e. Lakukan impregnasi yaitu proses infiltrasi bahan *embedding* dalam jaringan pada suhu 56°-60°C, caranya jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel, kemudian dimasukkan ke dalam bahan embedding yaitu paraffin TD 56°-60°C.

Tahapan impregnasi :

- 1) Paraffin (56°-60°C) : 2 jam
- 2) Paraffin (56°-60°C) : 2 jam
- 3) Paraffin (56°-60°C) : 2 jam

f. Lanjutkan dengan tahap embedding yaitu proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan embedding, yaitu paraffin TD 56°-60°C.

Tahapan Embedding :

- 1) Persiapkan alat cetak blok paraffin (besi berbentuk huruf L), letakkan alat cetak ini di tempat yang permukaannya rata.
- 2) Tuangkan paraffin cair TD 56° - 60° C ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi dengan surgical yang kita inginkan dan jangan lupa diberi label id sampel, tunggu beberapa menit sampai paraffin beku.
- 3) Paraffin blok sudah siap untuk dipotong, setelah dilepas dari alat cetak blok.

g. Lakukan penyayatan.

Penyayatan dilakukan dengan arah bukal-lingual.

Persiapan pada tahap penyayatan :

- 1) Olesi obyek glass dengan *meyer egg albumin*
- 2) Tempelkan blok paraffin pada blok *holder* mikrotom dengan bantuan pemanasan

Proses penyayatan :

- 1) Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya bersihkan pisau mikrotom dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan xylol dengan arah tegak lurus.
- 2) Alur ketebalan sayatan mikrotom 5 mm.
- 3) Ambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56° - 58° C hingga sayatan mekar.
- 4) Ambil sayatan yang telah mekar dengan gelas obyek yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*, dan keringkan dengan *hotplate* dengan suhu sekitar 30 - 35° C, minimal selama 12 jam.

3.6.4 Tahap Pewarnaan

Metode pewarnaan rutin menggunakan bahan cat haematoksilin eosin.

Progressive :

1. Xylol : 2-3 menit
2. Xylol : 2-3 menit
3. Alkohol absolut : 3 menit
4. Alkohol absolut : 3 menit
5. Alkohol 95% : 3 menit
6. Alkohol 95% : 3 menit
7. Air mengalir : 10-15 menit
8. Lugol : 10 menit
9. Bilas dengan air : 4-5 celup
10. Larutan hypo : 3 menit
11. Air mengalir : 10 menit
12. Mayer's haematoksilin : 15 menit
13. Air mengalir/air hangat : 20 menit
14. Eosin : 15 detik-2 menit
15. Alkohol 95% : 2-3 menit
16. Alkohol 95% : 2-3 menit
17. Alkohol absolut : 2-3 menit
18. Alkohol albolut : 2-3 menit
19. Xylol : 3 menit
20. Xylol : 3 menit
21. Xylol : 3 menit
22. Mounting

Regressive :

1. Xylol : 2 menit
2. Xylol : 2 menit
3. Alkohol absolut : 1 menit
4. Alkohol absolut : 1 menit
5. Alkohol 95% : 1 menit
6. Alkohol 95% : 1 menit
7. Air mengalir : 10-15 menit
8. Lugol : 10 menit
9. Bilas dengan air : 4-5 celup
10. Larutan hypo : 3 menit
11. Air mengalir : 10 menit
12. Harris Haematoksin : 15 menit
13. Air mengalir/air hangat : 20 menit
14. Acid alkohol : 3-10 celup
(Jaringan akan berwarna merah)
15. Bilas dengan air mengalir sehingga pengaruh asam terhenti
16. Lithium carbona/air amonnia : 3-10 celup
(Jaringan akan berwarna biru)
17. Air mengalir : 20 menit
18. Eosin : 15 detik-2 menit
23. Alkohol 95% : 2 menit
24. Alkohol 95% : 2 menit
25. Alkohol 95% : 2 menit
26. Alkohol absolut : 2 menit
27. Alkohol albolut : 2 menit
28. Alkohol absolut : 2 menit
29. Xylol : 2 menit
30. Xylol : 2 menit

31. Xylol

: 2 menit

32. Mounting

(Tim Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2008)

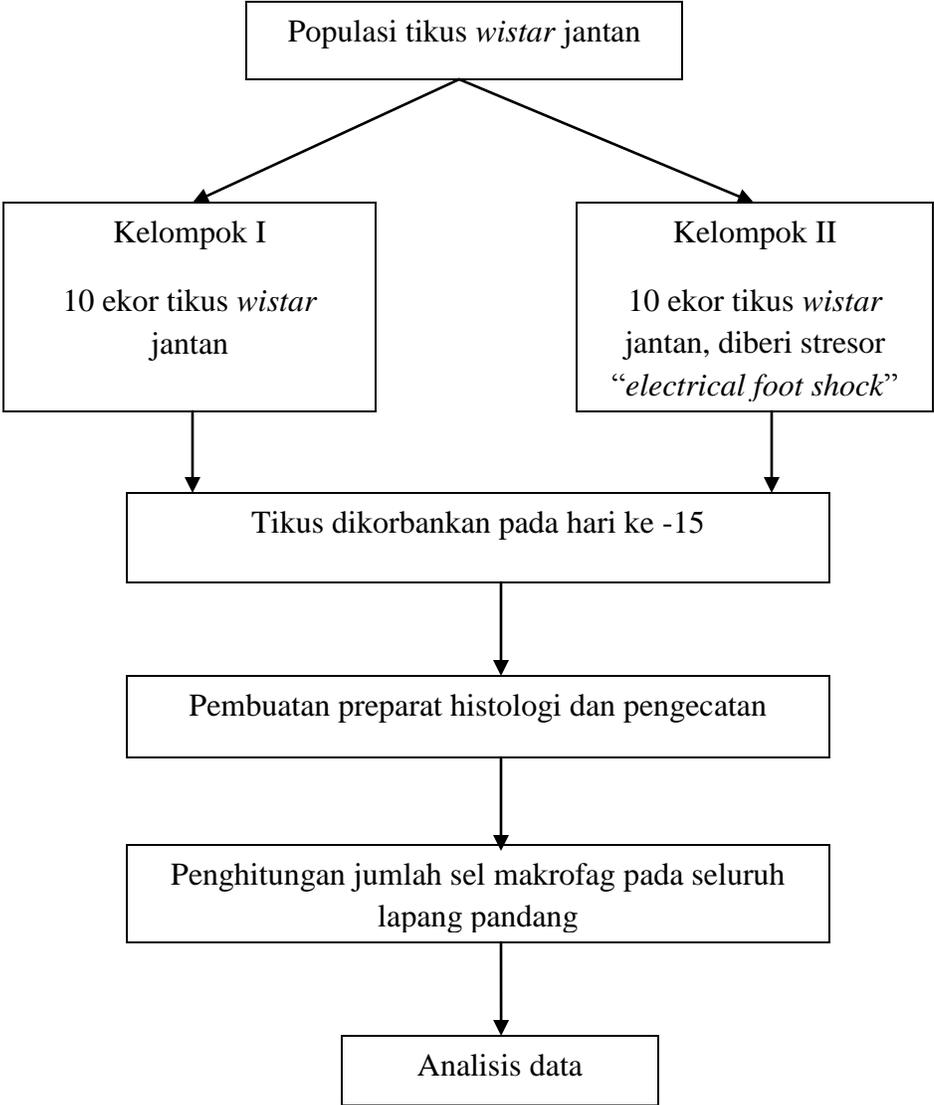
3.7 Tahap pengamatan

Pengamatan pada sediaan histologis dari kedua kelompok tikus tersebut menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 1000x dengan menggunakan *emersen oil xylol tissue lenissa* yang diteteskan diatas sediaan kemudian dihitung jumlah makrofag pada seluruh lapang pandang pada tiga preparat untuk tiap sampelnya, kemudian dihitung rata-ratanya.

3.8 Analisis data

Berdasarkan perhitungan jumlah makrofag dari dua kelompok sampel di atas diperoleh data, kemudian dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levene's test*, selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan metode statistik parametrik *independent T test*.

3.9 Alur Penelitian



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

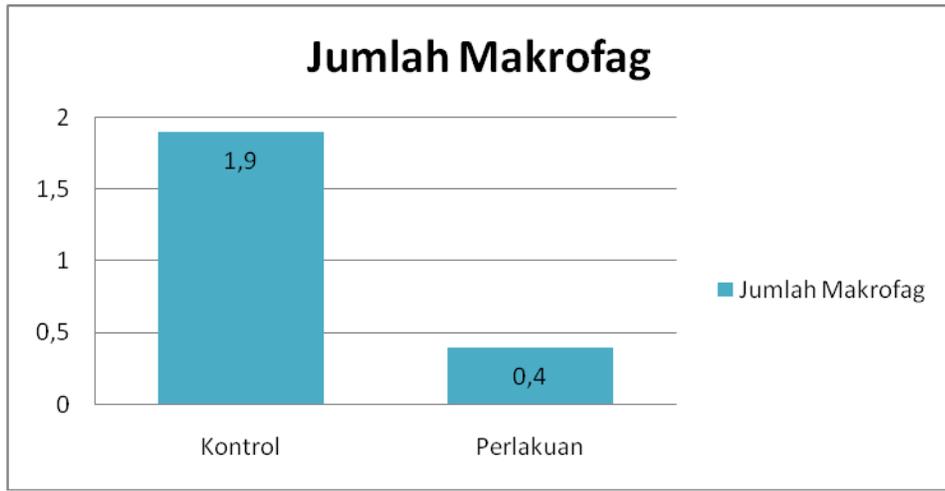
4.1 Hasil

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah makrofag gingiva tikus wistar jantan, diperoleh data sebagaimana dalam tabel berikut ini:

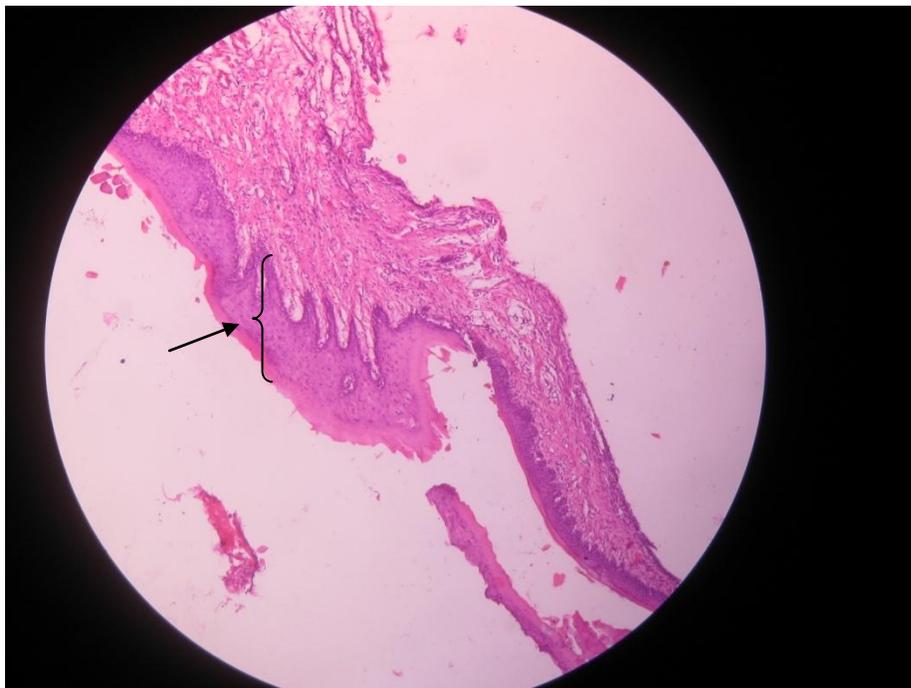
Tabel 4.1 Rata-rata jumlah sel makrofag pada kelompok kontrol dan perlakuan dari seluruh lapang pandang pada tiap sampel.

Sampel	Kontrol	Perlakuan
1	2	0
2	2	1
3	2	0
4	1	1
5	2	0
6	3	0
7	2	0
8	2	1
9	2	0
10	1	1
Rata-rata	1.9	0.4
Std. Deviation	.568	.516

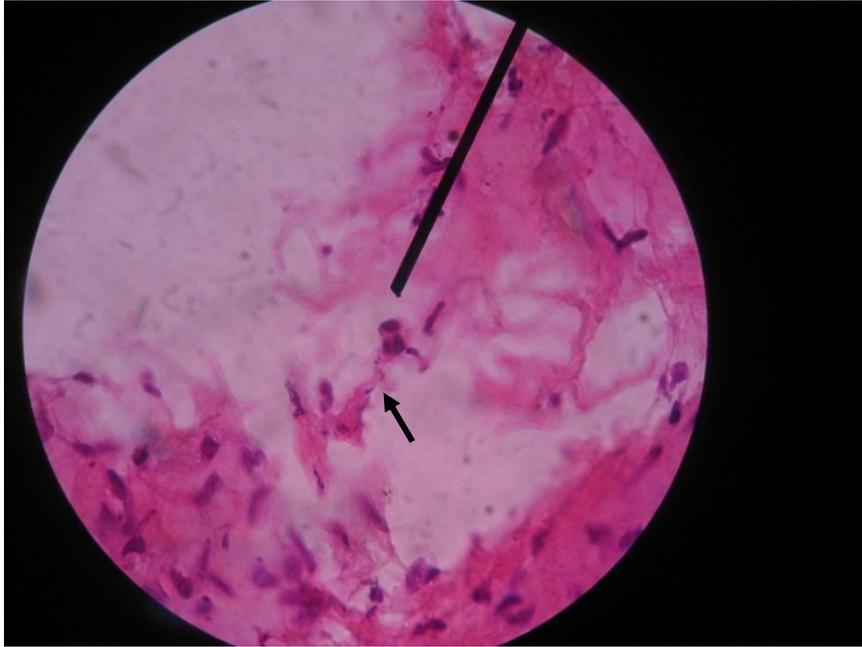
Dari data pada tabel 4.1, dapat dilihat rata-rata jumlah sel makrofag pada kelompok kontrol sebesar 1,9. Sedangkan, pada kelompok perlakuan sebesar 0,4.



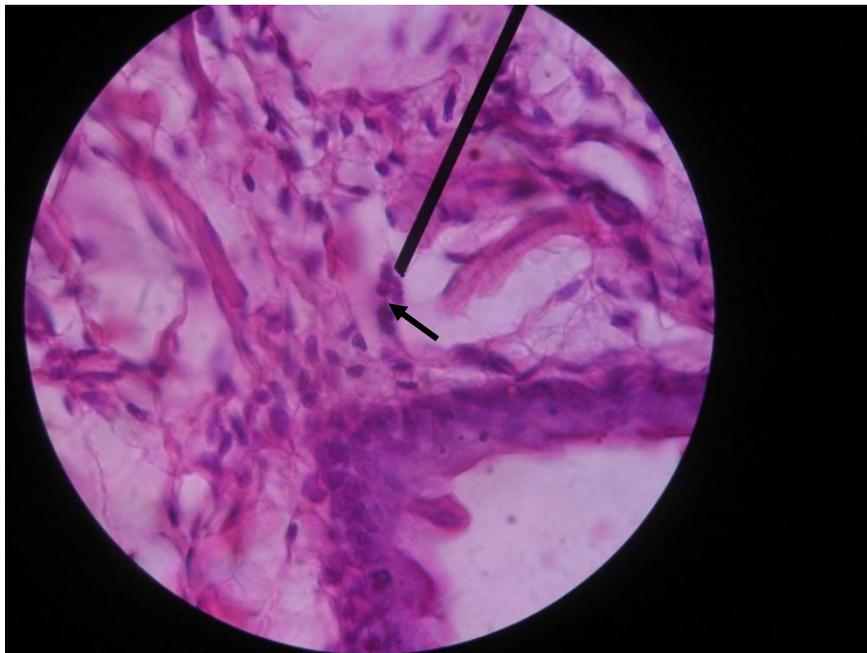
Gambar 4.1 Grafik perbandingan jumlah sel makrofag kelompok kontrol dan perlakuan.



Gambar 4.2 Epitel gingiva tikus wistar jantan (pada tanda panah) (pembesaran 40x)



Gambar 4.3 Sel makrofag pada sediaan gingiva tikus wistar jantan (pembesaran 1000x) pada kelompok kontrol.



Gambar 4.4 Sel makrofag pada sediaan gingiva tikus wistar jantan (pembesaran 1000x) pada kelompok perlakuan.

Gambar 4.3 dan 4.4 merupakan hasil pengamatan dan perhitungan sel makrofag pada jaringan gingiva dengan menggunakan mikroskop binokuler, memakai pembesaran 40x dan 1000x dengan menggunakan *emmersen oil tissue lennisa*.

4.2 Analisis Data

Data hasil penelitian diuji statistik dengan menggunakan uji parametrik yaitu *T-test* (tabel 4.4) dengan terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* (tabel 4.2) dan dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* (tabel 4.3).

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dari rata-rata jumlah makrofag pada tiap-tiap kelompok.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Kontrol	Perlakuan
Std. Deviation	.568	.516
Kolmogorov-Smirnov Z	1.170	1.204
Asymp. Sig. (2-tailed)	.130	.110

Tabel 4.2 menunjukkan nilai hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* kelompok kontrol adalah .130, sedangkan kelompok perlakuan .110. Kedua data tersebut menunjukkan bahwa nilai *Kolmogorov-Smirnov* > 0,05 yang berarti bahwa semua data di atas berdistribusi normal.

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas *Levene's test* dari rata-rata jumlah makrofag pada tiap-tiap kelompok.

Levene's Test		
Levene's Test for Equality of Variances		
	F	Sig.
Equal variances assumed	,762	,394

Tabel 4.3 menunjukkan nilai probabilitas jumlah makrofag $> 0,05$, dengan demikian data tersebut adalah homogen.

Tabel 4.4 Hasil uji *T-test* dari rata-rata jumlah makrofag pada tiap-tiap kelompok.

T-Test				
t-test for Equality of Means				
t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
6,181	18	,000	1,500	,243

Hasil analisis data dengan *T-Test* pada tabel 4.4 memperlihatkan bahwa jumlah makrofag antara kelompok kontrol dan perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna, terlihat bahwa nilai probabilitas sig. (2-tailed) adalah ,000 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan bermakna. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa, jumlah makrofag pada kelompok kontrol lebih besar dibanding pada kelompok perlakuan.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah makrofag pada gingiva tikus wistar jantan. Makrofag memiliki fungsi atau peran utama untuk memakan partikel dan mencernanya bersama-sama dengan lisosom yaitu berkaitan dengan fungsi pertahanan dan perbaikan, fungsi lainnya adalah menghasilkan IL (Inter Leukin) yang mengatur tugas sel-B dan sel-T dari

limfosit dan memobilisasi sistem pertahanan tubuh lainnya, makrofag juga merupakan sel sekretori yang dapat menghasilkan faktor nekrosis tumor (*TNF = Tumor Necrosis Factor*) yang dapat membunuh sel tumor, juga menghasilkan beberapa substansi penting termasuk enzim-enzim (lisozim, elastase) (Anggraeni, 2010).

Gingiva dipilih karena gingiva merupakan salah satu pertahanan rongga mulut yang penting. Kerusakan pada gingiva dapat mengakibatkan berbagai penyakit lain yang lebih serius, contohnya adalah meningkatnya resiko penyakit jantung dan stroke. Menurut Dr. Jean Connor, radang gingiva dicurigai memberi kontribusi cukup signifikan pada "rusaknya" kondisi kesehatan keseluruhan melalui aliran darah (Kuntari, 2009).

Tikus wistar jantan pada penelitian ini, diadaptasikan terlebih dahulu selama seminggu, kemudian secara berkala menerima stresor renjatan listrik selama dua minggu. Tanda-tanda stres pada tikus sudah dapat teramati dengan jelas saat memasuki awal minggu ke dua, antara lain tikus menjadi agresif dan menjerit.

Setelah dua minggu, tikus dikorbankan untuk diambil gingivanya, bagian gingiva yang diambil adalah *attached gingiva* pada gigi posterior mandibula sebelah bukal. Bagian ini digunakan karena merupakan bagian dari gingiva yang cukup lebar sehingga memudahkan dalam pengambilan sampel. Selanjutnya jaringan gingiva tersebut diproses untuk dibuat sediaan histologis. Sediaan histologis dibuat dengan ukuran yang sama.

Pembuatan sediaan histologis (preparat) dilakukan sebanyak tiga kali untuk satu sampel, dengan arah potongan yang sama, kemudian dicari rata-ratanya. Dengan demikian diharapkan agar penghitungan jumlah makrofag lebih akurat. Selanjutnya preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan preparat dilakukan dengan cara menghitung jumlah makrofag pada seluruh lapang pandang, untuk tiap-tiap preparat. Hal ini dilakukan karena jumlah makrofag secara normal hanya ada sedikit di dalam jaringan (Teacher Online, 2011). Kemudian didapatkan data hasil perhitungan yang sudah dirata-rata.

Data tersebut kemudian di uji dengan uji statistik *Kolmogorov smirnov* dan *Levene's test*, didapatkan data yang normal dan homogen. Selanjutnya data diuji dengan uji statistik parametrik *T-test*, untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara jumlah makrofag tikus yang diberi stresor dan yang tidak. Hasilnya adalah ada perbedaan yang signifikan, antara jumlah makrofag kelompok kontrol dengan perlakuan. Dapat dilihat pada grafik 4.1, bahwa jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan yang diberi stresor lebih rendah dari yang tidak diberi stresor. Sehingga dapat disimpulkan bahwa, stresor rasa sakit dapat menurunkan jumlah makrofag pada gingiva tikus wistar jantan.

Stresor pertama kali ditangkap oleh pancaindera dan diteruskan ke sistem saraf pusat. Selanjutnya, stres akan dialirkan ke organ tubuh melalui saraf otonom. Organ yang antara lain dilalui stres antara lain adalah kelenjar hormon, sehingga terjadilah perubahan keseimbangan hormon, yang pada akhirnya akan menimbulkan perubahan fungsional berbagai organ target. Sebagai contoh, terjadinya gingivitis maupun periodontitis (Rabin, 1999; Notosoedirdjo, 1999; dan Dhabar, 1993).

Stresor akan memodulasi sistem imun melalui dua jalur, yaitu jalur HPA dan ANS (IYW, 2005). Aksis *limbic-hypothalamo-pituitari-adrenal* (LHPA) menerima berbagai *input*, termasuk stresor yang akan mempengaruhi neuron bagian medial *hypothalamus*. Neuron tersebut akan meningkatkan sintesis *corticotropin releasing hormone* (CRH), yang akan melewati sistem portal untuk dibawa ke hipofisis anterior. Reseptor CRH akan menstimulasi hipofisis anterior untuk meningkatkan sintesis *adrenocorticotropin hormon* (ACTH) dari prekursornya. Kemudian ACTH mengaktifkan proses biosintesis dan melepaskan glukokortikoid (kortisol) dari korteks adrenal (Hoshi and Zhou, 1998; Baldwin, 2004; Spencer, 1990; dan Grossman, 1991). Sedangkan, ANS akan meningkatkan pengeluaran hormon katekolamin, pada kondisi stress (IYW, 2005).

Glukokortikoid (kortisol) dan katekolamin melawan efek fungsi imun, stres akan menyebabkan imunodepresi (melalui peningkatan kadar glukokortikoid).

Imunodepresi yang terjadi juga menyebabkan penurunan jumlah makrofag pada jaringan gingiva (Hoshi and Zhou, 1998 dan Baldwin, 2004).

Makrofag memiliki reseptor untuk produk-produk neuroendokrin dari aksis HPA, seperti kortisol dan katekolamin. Kortisol dan katekolamin dapat menyebabkan perubahan proliferasi sel, migrasi sel, dan lisis sel (William, 2008). Oleh karena itu, pada keadaan stres, hormon kortisol dan katekolamin akan menyebabkan perubahan pada sel makrofag yang berakibat pada penurunan jumlah makrofag dalam jaringan (Anggraeni, 2010).

Penurunan jumlah makrofag juga disebabkan oleh terjadinya gangguan yang berupa penurunan proliferasi sel. Makrofag berasal dari sel-sel pada sumsum tulang, dari promonosit kemudian membelah menjadi monosit dan beredar dalam darah. Gangguan pada fase ini menyebabkan penurunan jumlah sel monosit dalam darah. Pada perkembangannya monosit ini bermigrasi ke jaringan ikat, kemudian menjadi matang dan berubah menjadi makrofag. Bentuk sel-sel makrofag dalam darah adalah berupa monosit, dalam jaringan ikat longgar berupa makrofag (histiosit), dalam hati berupa sel Kupffer, dan pada SSP (Susunan Saraf Pusat) sebagai mikroglia (Anggraeni, 2010).

Sel makrofag didistribusikan secara luas ke seluruh tubuh dalam sistem fagositik mononuklear (dalam sistem retikulo-endotelial), ini merupakan istilah bagi sel-sel yang sangat fagositik yang tersebar luas di seluruh tubuh terutama pada daerah yang kaya akan pembuluh darah. Makrofag ditemui hampir pada seluruh organ tubuh, terutama pada jaringan ikat longgar. Gangguan pada saat pendistribusian, yang berupa penurunan migrasi sel makrofag diakibatkan oleh hormon kortisol dan katekolamin. Hal ini dapat menyebabkan penurunan jumlah sel makrofag dalam jaringan (Anggraeni, 2010).

Penurunan jumlah sel makrofag juga terjadi akibat hormon kortisol dan katekolamin. Kedua hormon tersebut menyebabkan lisis pada sel makrofag meningkat. Keseluruhan proses yang terjadi akibat hormon kortisol dan katekolamin

tersebut, yang pada akhirnya menyebabkan penurunan jumlah makrofag (Anggraeni, 2010).

Penurunan jumlah makrofag berpengaruh pada penurunan sistem imun di rongga mulut, khususnya sistem imun alami. Hal ini dapat mengakibatkan tubuh rentan terhadap infeksi, contohnya adalah infeksi jaringan periodontal (periodontitis) dan ANUG (*Accute Nectrotizing Ulcerative Gingivitis*) (William, 2008), serta dapat juga terkena kandidiasis, *xerostomia* dan *RAS* (*Reccurent Aphous Stomatitis*)(Sufiawati dan Febrina, 2010).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

Terdapat penurunan jumlah sel makrofag pada gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor rasa sakit.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme stresor rasa sakit terhadap sistem imun pada gingiva.
2. Perlu dilakukan upaya pencegahan penyakit dengan cara mengelola stres.

DAFTAR BACAAN

Buku

- Abbas, A.K., Lichtman A.H., dan Pober J.S. 1999. *Cellular and Molecular Immunology*, Massachusetts: W.B. Saunders Co.
- Atkinson, Smith. 2000. *Introduction to Psychology*. Edisi 13. Harcourt College Publisher.
- Bell, A. 1996. *Environmental Psychology*. Edisi 4. Harcourt Brace College Publishers.
- Chapel, H., Haeney M., Misbah H., dan Snowden N. 1999. *Essentials of Clinical Immunology*. Edisi 4. Blackwell Science Ltd.
- Gabriel, J. F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Ganong, W. F. 1998. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 14. Terjemahan: Petrus Andrianto. Judul Asli: *Review of Medical Physiology*, 1995. Jakarta: EGC.
- Grossman C. J. 1991. *Immunoendocrinology*, Dalam : *Basic and Clinical Endocrinology*, Third ed. Lange Medical Book.
- Guyton, A. 1996. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*, Edisi 3. Alih Bahasa: Petrus Andrianto. Judul Asli: *Human Physiology and Mechanism of Disease*, 1991. Jakarta. EGC.
- Howe, L. G. dan F. I. H. Whitehead. 1992. *Anastesi Lokal*. Alih Bahasa : Lilian Yuwono. Judul Asli: *Lokal Anaesthesia in Dentistry*. Edisi 3. Jakarta: Hipocrates.
- Janeway, C.A., Travers P., Walport M., dan Capra J.D. 1999. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. Edisi 4. Churchill Livingstone.
- Morgan, C.T. King, R.A. Weisz, J.R. and Scholper, J. 1989. *Introduction to Psychology*. Edisi 7. Singapore : McGraw-Hill.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi revisi. Jakarta : Rineka Pustaka.
- Notosoedirdjo, M. 1999. *Psychobiological Basis of Psychoneuroimmunology*. Jakarta : Folia Medika Indonesiana.

- Rabin, B.S. 1999. *Stress, Immune Function and Health, the connection*. USA : L Wiley-Liss, A John Wiley & Sons, Inc, Publ.
- Selye, Hans. 1982. *History and Present of The Stress Concept*. Dalam *Handbook of Stress Theoretical and Clinical Aspect*. Editor : Goldbelger, L. dan Bronizt, S. Collier Mac William. New York : PJG.
- Steel, R. G. D dan Torrie H. James. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Tim Patologi Anatomi. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi*. Jember: FKG UNEJ

Jurnal

- Amir, Nurmiati. 2005. *Diagnosis dan Penatalaksanaan Depresi Pascastroke*. Dalam *Cermin Dunia Kedokteran No. 149 tahun 2005 tentang Kesehatan Jiwa*.
- Asnar, Elyana. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus terhadap Modulasi Respon Imun Mukosal Tikus yang Stress akibat Stressor Renjatan Listrik*. Suatu pendekatan psikoneuroimmunologi. (Disertasi). Program Pasca Sarjana UNAIR.
- Daeng, H. 1999. *Psychobiology of Stress*. *Journal Folia Medika Indonesiana* 35: 7-9.
- Dhabar, F.S. 1993. *Stress response, adrenal steroid receptor levels and corticosteroid-binding globulin levels- a comparison between Sprague-Dawley, Fisher 344 and Lewis rats*. *Brain Research*.
- Djamal, N. Z. dan E. Winiati. 1999. *Peran Sitokin dalam Patogenesis Berbagai Kelainan Mukosa Mulut*. Dalam *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia 1999*; Vol. 6 (2): Hal 37 – 42. Jakarta: EGC.
- Efendi, Zukesti. 2003. *Daya Fagositosis Makrofag pada Jaringan Longgar Tubuh*. Dalam *USU Digital Library*. Sumatra Utara : Bagian Histologi FK USU.
- Gunawan, Bambang dan Sumadiono. 2007. *Stres dan Sistem Imun Tubuh: Suatu Pendekatan Psikoneuroimmunologi*. Dalam *Cermin Dunia Kedokteran No. 154 tahun 2007*.

- Handajani, Juni. 2009. *Penggunaan Pasta Gigi Ekstrak Etanolik Teh (Camellia Sinensis) dan Pasta Gigi Epigallocatechin Gallate Ekstrak Teh Terhadap Kadar sIgA Saliva Pasien Penderita Gingivitis*. Jogja : FKG UGM.
- Hoshi, K. and Zhou X. P. 1998. Stress and Immunity. *Asian Med.J*; 41(9): 429-33.
- IYW. 2005. *Pengaruh Dukungan Keluarga terhadap Perubahan Respons Sosial-Emosional Pasien HIV-AIDS*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Putra, S.T. 1991. Stres dan Immune Surveillance, Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi. *Jurnal Berkala Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin* nomer 3.
- Perssons, J. 1995. *Stress and pulmonary immune functions in the rat (dissertation)*. Free University, Amsterdam.
- Setyonegoro, Kusumanto. 2005. Kesehatan Jiwa (*Mental Health*) di Kehidupan Modern. Dalam *Cermin Dunia Kedokteran No. 149 tahun 2005 tentang Kesehatan Jiwa*.
- Spencer, R. L. ,Mc. Ewen B. S.1990. Adaptation of the hypothalamic pituitary-adrenal axis to chronic ethanol stress. *Journal of Neuroendocrinol* vol. 52 : 481- 89.
- Sufiawati, Irna dan Ferbrina Rahmayanti P. 2010. *Manifestasi Oral yang Berhubungan dengan Tingkat Imunosupresi pada Anak-anak yang Terinfeksi HIV/AIDS dan Penatalaksanaannya (Studi Pustaka)*. Jakarta : Departemen Ilmu Penyakit Mulut FKG UI.
- Sulistiyani, Erna. 2003. *Mekanisme Eksaserbasi Reccurent Aphthous Stomatitis yang Dipicu oleh Stresor Psikologis*. Surabaya : Majalah Kedokteran Gigi, Edisi Khusus Temu Ilmiah Kedokteran Gigi III: 334-337.
- Suminarti, 1997. *Pengaruh Asap Rokok dan Stress terhadap Respon Imun Mencit. Penelitian Experimental Laboratorium*. Disertasi Program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: UNAIR.
- Triwahyudi, Zecky Eko dan Yosef Purwoko. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Eurcoma Llongifolia* terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Mencit Balb/C Jantan yang Dibuat Stres dengan Stresor Renjatan Listrik. Dalam *Jurnal Media Medika Muda* Nomor 4 Januari - Juni 2010. Fakultas Kedokteran UNDIP.

Vogel, F. Ruric. 2006. *Stress in the Work Place : The Phenomenon, Some Key Correlates, and Problem Solving Approaches*. Pretoria : Faculty of Humanity University of Pretoria.

William. 2008. *Hubungan Stres dengan Penyakit dan Perawatan Periodontal*. Medan : FKG Universitas Sumatera Utara.

Internet

Anggraeni, Indira Irma. 2010. *Sel Makrofag*.
<http://www.pharmacist.com/selmakrofag> [6 Desember 2011].

Baldwin A. 2004. *Physiological basis of Psychoneuroimmunology*.
[http://www.physiol.arizona.edu/PSIO430530/slides/Exercise Baldwin 42_3.pdf](http://www.physiol.arizona.edu/PSIO430530/slides/Exercise_Baldwin_42_3.pdf) [5 Maret 2011] .

Kuntari, Rien. 2009. *Jangan Remehkan Radang Gusi dan Sariawan!*.
<http://www.pdgi-online.com> [6 Desember 2011].

Padgett, D. A. and Glaser R. 2003. How stress influences immune response. *Trends in immunology*. 2003:24 (8):444-8 http://medicine.osu.edu/mindbody/pdf/how_stress_influences_immun.pdf [6 April 2011].

Teachers Online. 2011. *White Blood Cells*.
<http://www.teachersonline.com/whitebloodcells> [6 Desember 2011].

Uchakin, P. N. 2003. Immune and Neuroendocrine Alterations in Marathon Runners. *J. Appl. Res.*3(4);483-94 <http://www.jrnlappliedresearch.com/articles/Vol3Iss4/Uchakin.pdf> [6 April 2011].

Yoon, H. 2004. Effects of stress on female rat sexual function, *Internat. J. Impotence Research*. advance online publ 18 March 2004.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?dopt=DocSum&cmd=Search&db=PubMed&orig_db=PubMed&te... [6 April 2011].

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Makrofag * Sampel	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

Report

Makrofag

Sampel	Mean	N	Std. Deviation
Kontrol	1.90	10	.568
Perlakuan	.40	10	.516
Total	1.15	20	.933

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Perlakuan
N		10	10
Normal Parameters ^a	Mean	1.90	.40
	Std. Deviation	.568	.516
Most Extreme Differences	Absolute	.370	.381
	Positive	.330	.381
	Negative	-.370	-.277
Kolmogorov-Smirnov Z		1.170	1.204
Asymp. Sig. (2-tailed)		.130	.110
a. Test distribution is Normal.			

T-Test

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah Sel Makrofag	Kelompok Kontrol	10	1,90	,568	,180
	Kelompok Perlakuan	10	,40	,516	,163

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah Sel Makrofag	Equal variances assumed	,762	,394	6,181	18	,000	1,500	,243	,990	2,010
	Equal variances not assumed			6,181	17,841	,000	1,500	,243	,990	2,010

Alat penelitian



1. inkubator



2. Lemari Es



3. Filling kabinet



4. Mikroskop binokuler



5. Alat pengering preparat (*Slide warmer*)



6. Mikrotom putar



7. Automatic staining



8. Waterbath

Bahan Penelitian



Keterangan :

- | | |
|-----------------------|--------------------------|
| 1. Alkohol 100% | 8 Kristal Eosin. |
| 2. Xylol | 9. <i>Entellan</i> |
| 3. Parafin | 10. Kristal Haematoxylin |
| 4. <i>Formic Acid</i> | 11. <i>Obyek Glass</i> |
| 5. Alkohol 95% | 12. <i>Deck glass</i> |
| 6. Alkohol 80% | 13. Minyak Emersi |
| 7. Alkohol 70% | |