



**PENURUNAN IMUNITAS ADAPTIF RONGGA MULUT
TIKUS WISTAR JANTAN AKIBAT
STRESOR RASA SAKIT**

SKRIPSI

Oleh

ZEFRI EKA SETIAJI

NIM 081610101074

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012



**PENURUNAN IMUNITAS ADAPTIF RONGGA MULUT
TIKUS WISTAR JANTAN AKIBAT
STRESOR RASA SAKIT**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran Gigi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

oleh

ZEFRI EKA SETIAJI

NIM 081610101074

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Endang Astutik dan Ayahanda Aji Subarno yang tercinta;
2. Semua guruku sejak taman kanak-kanak sampai sekolah menengah atas;
3. Semua dosenku di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

Satu bab dari ilmu yang dipelajari seseorang
adalah lebih baik baginya daripada
dunia dan segala isinya.

(Al-Hadits)^{*)}

^{*)}Rasulullah Muhammad SAW dalam Al-Ghazali. 2009. *Ihya' 'Ulumiddin*. Semarang: CV Asy-Syifa'.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Zefri Eka Setiaji

NIM : 081610101074

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penurunan Imunitas Adaptif Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan Akibat Stresor Rasa Sakit” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 1 Februari 2012

Yang Menyatakan,

Zefri Eka Setiaji

NIM 081610101074

SKRIPSI

**PENURUNAN IMUNITAS ADAPTIF RONGGA MULUT
TIKUS WISTAR JANTAN AKIBAT
STRESOR RASA SAKIT**

Oleh

ZEFRI EKA SETIAJI

NIM 081610101074

Pembimbing

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Penurunan Imunitas Adaptif Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan Akibat 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 Imunitas Adaptif Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan Akibat Stresor Rasa Sakit; Zefri Eka Setiaji, 081610101074; 2012: 47 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Stres merupakan respon adaptasi terhadap situasi eksternal yang mengakibatkan penyimpangan fisik, psikologis, dan tingkah laku. Segala sesuatu yang dapat menimbulkan kondisi stres disebut sebagai stresor. Stresor yang berlebihan dapat melemahkan sistem kekebalan tubuh. Rendahnya sistem kekebalan tubuh dapat menyebabkan gangguan pada kesehatan rongga mulut. Salah satu komponen sistem imun rongga mulut adalah sistem imun adaptif berupa limfosit.

Secara konseptual stresor dapat mempengaruhi imunitas adaptif rongga mulut. Namun sampai saat ini mekanisme penekanan limfosit yang merupakan komponen imunitas adaptif rongga mulut oleh stresor tersebut masih belum dapat dijelaskan.

Penelitian ini menggunakan pendekatan *medicophysiological*, yaitu suatu pendekatan yang mengartikan stres sebagai efek fisiologis tubuh terhadap stimuli yang mengancam. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya penurunan jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor renjatan listrik.

Penelitian menggunakan stresor renjatan listrik (5-30mA) dengan alat *Electrical Foot Shock*, 14 hari pada hewan coba, tikus wistar jantan, berumur 3-4 bulan, berat badan antara 200-250 gram. 20 ekor tikus wistar yang homogen dibagi menjadi 2 kelompok secara alokasi random (*Random Assignment*), yaitu kelompok

kontrol 10 ekor dan kelompok perlakuan 10 ekor. Variabel terikat adalah jumlah limfosit pada sediaan jaringan *attached gingiva* tikus.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol sebesar 7,74 sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 5,65. Kemudian dari hasil analisis data dengan *T-Test* menunjukkan nilai probabilitas sebesar 0,000 ($p < 0,05$) artinya ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Dari hal tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa stresor rasa sakit berupa *electrical foot shock* dapat menurunkan jumlah limfosit pada jaringan gingiva yang pada akhirnya akan menurunkan imunitas adaptif rongga mulut tikus wistar jantan.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah swt atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penurunan Imunitas Adaptif Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan Akibat Stresor Rasa Sakit”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. Erna Sulistyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, drg. Dwi Merry Ch. Robin, Mkes., selaku Dosen Pembimbing Anggota I, dan drg. Iin Eliana T., M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. drg. Winny Adriatmoko, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Bapak/Ibu Aji Subarno sekeluarga yang telah memberikan semangat, dorongan, dan doanya demi terselesaikannya skripsi ini;
4. Mbak Wahyu, Mas Bagus, dan Mas Agus, selaku laboran yang telah membantu penelitian penulis demi terselesaikannya skripsi ini;
5. KH. Iqbal Ridwan, Al-Habib Nizar Al-Aydrus, Al-Habib Alwi Al-Muhdlor, dan Al-Habib Yahya Al-Haddar, selaku guru mulia spiritual penulis yang telah memberikan nasihat, motivasi, dan doanya selama penulis menjadi mahasiswa;

6. rekan kerjaku Humayra, Adelina, Chandra, Paulina, Amaliya, Wiwik, Farizan, dan Desiana yang telah saling membantu selama penelitian, dan juga Muhammad Irfan yang telah membantu analisis data;
7. semua pihak yang yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	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 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4

	Halaman
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Stres.....	5
2.2 Imunitas Adaptif.....	9
2.3 Gingiva.....	14
2.4 Pengaruh Stresor Renjatan Listrik Terhadap Imunitas Adaptif.....	18
2.5 Manifestasi Penurunan Imunitas Adaptif di Rongga Mulut.....	18
2.6 Kerangka Konseptual Penelitian.....	19
2.7 Hipotesis.....	21
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Jenis, Waktu, dan Tempat Penelitian.....	22
3.2 Identifikasi Variabel Penelitian.....	22
3.3 Definisi Operasional Penelitian.....	23
3.4 Populasi, Kriteria, dan Besar Sampel.....	24
3.5 Alat dan bahan Penelitian.....	25
3.6 Prosedur Penelitian.....	26
3.7 Tahap Pengamatan.....	32
3.8 Analisis Data.....	32
3.9 Alur Penelitian.....	33

	Halaman
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil.....	34
4.2 Analisis Data.....	38
4.3 Pembahasan.....	40
BAB 5. PENUTUP.....	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR BACAAN	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-rata jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol dan perlakuan dari ketiga lapang pandang pada tiap sampel.....	34
4.2 Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dari rata-rata jumlah limfosit pada tiap-tiap kelompok.....	38
4.3 Hasil uji homogenitas <i>Levene's test</i> dari rata-rata jumlah limfosit pada tiap-tiap kelompok.....	39
4.4 Hasil uji <i>T-test</i> dari rata-rata jumlah limfosit pada tiap-tiap kelompok.....	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Anatomi Landmarks gingiva.....	14
2.2Histologi epitel gingiva normal.....	16
2.3Serabut gingiva.....	17
2.4Jalur stresor renjatan listrik.....	20
4.1Grafik perbandingan jumlah sel limfosit kelompok kontrol dan perlakuan seluruh sampel.....	35
4.2Sediaan histologis gingiva tikus wistar jantan degan perbesaran 45x.....	36
4.3Daerah penghitungan dengan perbesaran 1000x.....	36
4.4Sel limfosit pada sediaan gingiva tikus wistar jantan kelompok kontrol....	37
4.5Sel limfosit pada sediaan gingiva tikus wistar jantan kelompok perlakuan....	. 37
4.6Diagram Pengaruh Stresor Renjatan Listrik terhadap Jumlah Limfosit Jaringan Rongga Mulut.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penghitungan Sampel.....	48
B. Tabel Hasil Penelitian.....	49
C. Tabel Uji Analisis Data.....	54
D. Alat dan Bahan Penelitian.....	56

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini kemajuan yang pesat dalam berbagai bidang kehidupan manusia yang meliputi bidang ekonomi, politik, teknologi, sosial, dan budaya, serta bidang-bidang lain, membawa pengaruh tersendiri bagi perkembangan manusia. Kehidupan manusia yang semakin sulit dan kompleks, menyebabkan manusia tidak dapat menghindari tekanan-tekanan kehidupan yang mereka alami yang pada akhirnya memicu terjadinya stres. Seperti telah banyak diketahui bahwa stres mempunyai dampak buruk terhadap kesehatan, bahkan dikatakan bahwa tidak ada penyakit yang tidak berhubungan dengan faktor stres (Priandini, 1999). Banyaknya fakta yang mengaitkan antara stres dan timbulnya penyakit, dimungkinkan karena dalam keadaan stres, imunitas tubuh individu akan menurun, namun demikian mekanisme penurunan imunitas tubuh tersebut belum diketahui dengan jelas (Vogel, 2006). Penelitian tentang stres dan perubahan pada respon imun tubuh sudah banyak dilakukan, tetapi perubahan pada respon imun rongga mulut terutama imunitas adaptif rongga mulut, yang merupakan kunci dan unsur penting dari sistem imun rongga mulut, masih belum dapat dipastikan.

Stres dapat terjadi oleh karena adanya bermacam-macam perbedaan situasi dan emosi yang dapat timbul sebagaimana disebabkan oleh usaha atau kerja yang terlalu keras, sakit, konsentrasi yang berlebihan, kegagalan, dan lain sebagainya (Priandini, 1999). Keberadaan stresor yang terjadi secara terus-menerus ini tidak hanya akan mengganggu kesehatan, tetapi juga dapat melemahkan sistem kekebalan tubuh. Rendahnya sistem kekebalan tubuh dapat menyebabkan gangguan pada kesehatan rongga mulut (Kusumawardani, 2007). Hal ini terbukti pada individu yang mengalami stres akan lebih mudah terinfeksi

bakteri, virus, jamur, dan protozoa yang menimbulkan berbagai penyakit di rongga mulutnya dibandingkan dengan individu yang tidak mengalami stres (Rose dan Kaye, 1997). Hal tersebut menyebabkan stres dan keterkaitannya terhadap perubahan sistem imun rongga mulut ini menjadi suatu fenomena yang menarik dan penting untuk diteliti.

Sistem imun tubuh, termasuk rongga mulut kita, sangat erat kaitannya dengan lingkungan hidup dan faktor psikososial. Rongga mulut kita mempunyai sistem khusus untuk memberantas bermacam-macam bahan yang infeksius dan toksik. Salah satu komponen sistem imun rongga mulut yang merupakan unsur terpenting dan merupakan kunci dari sistem kekebalan itu sendiri adalah sistem imun adaptif berupa limfosit (Ganong, 1995). Stres menyebabkan supresi sistem imun, sehingga resiko untuk terserang penyakit infeksi menjadi lebih besar. Berbagai macam stresor, baik stresor fisik maupun mental, dimungkinkan dapat meningkatkan sekresi *Adrenocorticotropic Hormone* (ACTH) yang berdampak merangsang sekresi kortisol, sehingga dapat menekan sistem imun terutama sistem imun adaptif yang berupa limfosit (Guyton, 2007). Namun, penelitian mengenai hubungan stres dengan perubahan fungsi imunitas adaptif itu sendiri masih sangat sulit, karena manifestasi dari stres hanya dapat terlihat dengan timbulnya penyakit dan stres pada manusia bersifat subjektif sehingga sulit diukur.

Menurut pendekatan *medicophysiological*, stres diartikan sebagai efek fisiologis tubuh terhadap stimuli yang mengancam, jadi stres merupakan variabel tergantung. Menurut pendekatan ini, stresor dapat fisik maupun psikis, dan apapun stresornya, reaksi tubuh terhadap stresor adalah sama. Salah satu stresor fisik diantaranya adalah rasa sakit berupa renjatan listrik (Vogel, 2006). Melalui pendekatan tersebut, maka penelitian mengenai stres dapat dilakukan secara eksperimental dengan hewan coba.

Dengan latar belakang tersebut di atas, maka penulis akan melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh stresor rasa sakit terhadap imunitas adaptif

rongga mulut tikus wistar jantan. *Electrical foot shock* digunakan sebagai sumber stresor rasa sakit, karena dengan alat ini, intensitas dapat terukur, penyaluran arus listrik cepat, dan tidak ada efek ikutan setelah dilakukan renjatan listrik (Asnar, 2001). Objek yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar galur murni karena tikus termasuk hewan golongan omnivora yang memiliki alat pencernaan dan kebutuhan nutrisi yang hampir sama dengan manusia, memiliki siklus hidup relatif panjang, pemeliharaannya cukup mudah, dan dapat mewakili mamalia termasuk manusia (Baker, 1980). Sistem imun adaptif rongga mulut yang akan diteliti berupa sel limfosit karena imunitas adaptif yang dibentuk dalam tubuh manusia dihasilkan oleh sel limfosit (Guyton, 2007). Jaringan tubuh tikus wistar yang akan diteliti pada penelitian ini adalah jaringan *attached gingiva* karena gingiva merupakan sistem pertahanan rongga mulut yang cukup baik. Pada daerah sulkus gingiva terdapat *gingival cervical fluid* (GCF) yang mengandung berbagai antibodi dan sel-sel imun terutama limfosit. Selain itu, lokasi gingiva yang mengelilingi gigi, mengakibatkan gingiva sangat rentan terhadap berbagai iritasi terutama bakteri plak gigi. Dengan adanya berbagai iritasi itulah mengakibatkan berbagai antibodi dan sel imun teraktivasi menuju jaringan gingiva (Barid, 2007). Metode eksperimental laboratoris dipilih karena baik sampel yang berupa tikus wistar, maupun perlakuan lebih terkendali, terukur, dan pengaruh perlakuan dapat lebih dipercaya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagaimana berikut: apakah stresor rasa sakit dapat menurunkan jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus wistar jantan.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk membuktikan adanya penurunan jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus wistar jantan setelah pemberian stresor rasa sakit.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah sel imun adaptif berupa limfosit pada jaringan lunak rongga mulut.
2. Dapat digunakan dalam aplikasi klinis khususnya kedokteran gigi dalam menentukan rencana perawatan yang akan dilakukan pada pasien dengan kondisi stres baik dari pemeriksaan subjektif maupun objektif.
3. Dapat dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai informasi sekaligus himbauan untuk menghindari kondisi stres yang kemungkinan akan menyebabkan mereka mudah terinfeksi atau mudah terserang penyakit akibat menurunnya sistem imun oleh karena berbagai macam stresor.
4. Dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi Stres dan Stresor

Banyak orang biasanya berpikir stres adalah suatu kejadian negatif dengan dampak negatifnya. Stres negatif ini disebut *distress*. Namun, ada juga bentuk positif dari stres yang disebut *eustress*, yang mana dalam bahasa Yunani *eu* berarti baik. Contoh dari *eustress* antara lain, kenaikan pangkat, perolehan penghargaan, dan pernikahan (Vogel, 2006).

Banyak sekali definisi stres yang dapat ditemukan dalam literatur. Menurut Moorhead dan Griffin (1989) dalam Vogel (2006), stres adalah respon adaptasi seseorang terhadap suatu rangsangan yang menempatkan tuntutan psikologis dan fisik yang berlebihan dalam diri orang tersebut. Sama halnya menurut Luthans (2002) dalam Vogel (2006), stres merupakan respon adaptasi terhadap situasi eksternal yang mengakibatkan penyimpangan fisik, psikologis, dan tingkah laku. Sedangkan berdasarkan *Response-based Approach* atau *Medico-physiological Approach*, stres dianggap sebagai suatu respon, suatu pola, dan diperlakukan sebagai variabel tergantung. Pada pendekatan ini, stres lebih ditekankan sebagai respon dari seseorang ketika orang tersebut terpapar ke dalam suatu rangsangan atau tuntutan lingkungan (Vogel, 2006). 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 merasa tidak mampu untuk terus bertahan (Selye, 1982). Stres juga

merupakan istilah yang digunakan untuk menandai adanya reaksi fisiologis yang mengancam homeostasis. Dapat dikatakan stres merupakan salah satu objek atau faktor penyebab yang dapat memicu timbulnya infeksi (Sulistiyani, 2003).

Definisi-definisi tersebut di atas menyatakan secara tidak langsung bahwa individu berespon dengan cara-cara yang berbeda ketika dihadapkan pada stresor-stresor tertentu. Stresor adalah suatu rangsangan, yang mana individu merasa rangsangan itu adalah sebagai suatu ancaman. Individu tersebut harus merasakan stresor itu melebihi batas untuk menghasilkan stres, apakah itu berupa stresor fisik, psikologis, maupun psikososial. Stresor fisik meliputi keadaan seperti: polusi lingkungan, tekanan-tekanan lingkungan seperti perubahan temperatur yang ekstrim, renjatan listrik, latihan yang panjang, luka atau trauma lain terhadap tubuh, dan terpapar penyakit. Stresor psikologis berhubungan dengan ancaman-ancaman yang dikaitkan dengan reaksi internal seseorang, seperti pikiran, perasaan, dan perhatian terhadap ancaman-ancaman ini. Stresor psikososial adalah stresor yang dihasilkan dari interaksi interpersonal, seperti dengan teman sejawat dalam bekerja atau dari isolasi sosial (Vogel, 2006).

2.1.2 Mekanisme Stres

Sindroma stres timbul sebagai respon terhadap semua stimulus yang mengakibatkan stres. Respon tubuh terhadap stimulus apapun mengakibatkan stres terjadi dalam tiga tahap yang disebut Sindrom Adaptasi Umum/ *General Adaptation Syndrom* (GAS). GAS terjadi dalam tiga fase yang berbeda:

Fase 1: **Reaksi peringatan/ Alarm Reaction**. Tahap ini menjadi aktif ketika individu terpapar stresor yang terus-menerus dan berlebihan. Fase ini memiliki dua subfase untuk menghadapi pengaruh dari stresor:

a. Shock phase. Fase ini segera dan berasosiasi dengan tanda-tanda luar dari distress seperti kehilangan tonus otot, menurunnya suhu tubuh, dan menurunnya tekanan darah.

b. Counter-shock. Fase ini dengan segera mengikuti *shock phase* dan berhubungan dengan pelepasan adrenalin dan noradrenalin. Mereka disekresikan untuk memastikan bahwa energi dibuat tersedia dari simpanan tubuh, kecepatan denyut nadi meningkat, tekanan darah meningkat dengan suatu kesesuaian yang meningkat dalam kecepatan darah bersirkulasi melalui tubuh, dan untuk menstimulasi sistem saraf pusat.

Fase 2: **Tahap resistensi/ *Resistance stage*.** Setelah reaksi peringatan reda dan stres berlanjut, suatu penurunan sekresi adrenokortikal terjadi. Sebagian besar perubahan-perubahan yang terjadi selama reaksi peringatan kembali. Ini berkaitan dengan meningkatnya sekresi kortisol dengan seiringan mempertinggi metabolisme, meningkatkan kekuatan otot, menurunkan bengkak dan inflamasi, dan menurunkan imunitas. Walaupun pada tahap ini tampak tahap yang mana penanggulangan dan adaptasi terjadi, kapasitas individu untuk melawan stresor terbatas. Sumber-sumber tubuh habis dan sistem pertahanan tubuh akan melemah jika stres tidak hilang. Tahap resistensi ini berhubungan dengan perkembangan *psychosomatic disorder, gastric ulcer, hipertensi, kolitis, asma, migrain, dan arthritis* di beberapa kasus.

Fase 3: **Tahap kelelahan/ *Exhaustion stage*.** Ketika stresor menjadi berlebihan dan semakin lama, sumber adaptif individu menjadi habis. Tingginya tingkat kortisol mulai memiliki dampak mengganggu yang menjadi nyata sebagai maladaptasi psikologis, fisiologis, dan tingkah laku, seperti depresi kronis, rendahnya perlawanan terhadap infeksi, dan alkoholisme. Dalam banyak kasus ekstrim, tahap ini dapat mengantar kepada kematian (Selye, 1982).

2.1.3 Proses Fisiologi Stres

Hampir semua jenis stresor, apakah bersifat fisik atau neurogenik, menyebabkan sekresi hormon adrenokortikotropik (ACTH) dengan segera dan bermakna oleh kelenjar hipofisis anterior yang diikuti dengan peningkatan sekresi hormon adrenokortikal berupa kortisol sampai 20 kali lipat dalam waktu beberapa menit. Beberapa jenis stres yang meningkatkan pelepasan kortisol adalah sebagai berikut:

1. hampir semua jenis trauma,
2. infeksi,
3. kepanasan atau kedinginan yang hebat,
4. penyuntikan norepinefrin dan obat-obatan,
5. pembedahan,
6. penyuntikan bahan yang bersifat nekrolisis di bawah kulit,
7. mengekang seekor binatang sehingga tidak dapat bergerak,
8. hampir setiap penyakit yang menyebabkan kelemahan (Guyton, 2007).

Rangsangan sakit yang disebabkan oleh jenis stresor fisik atau kerusakan jaringan pertama-tama dihantarkan ke atas melalui batang otak dan akhirnya ke eminensia mediana hipotalamus. Di sini, CRF disekresikan ke dalam sistem portal hipofisis. Dalam beberapa menit, seluruh rangkaian pengaturan mengarah kepada sejumlah besar kortisol di dalam darah (Guyton, 2007).

Stresor mental dapat menyebabkan peningkatan secara cepat sekresi ACTH yang sebanding. Keadaan ini dianggap sebagai akibat dari naiknya aktivitas dari sistem limbik, khususnya dalam regio amigdala dan hipokampus, yang kemudian menyalurkan sinyal ke bagian posterior medial hipotalamus (Guyton, 2007).

2.1.4 Stresor Rasa Sakit (Renjatan Listrik)

Stresor rasa sakit menyebabkan sensasi nyeri atau gangguan sensasi yang menyakitkan atau menekan perasaan. Aplikasi stimulus dari stresor 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. Respon yang bervariasi terhadap stimulus sakit yang identik bukan disebabkan oleh perbedaan 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 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*, kemudian diikuti dengan kematian, oleh karena itu perlu diketahui bahwa perubahan-perubahan yang timbul akibat renjatan listrik sebagai metode pengamatan sehingga stres dapat dihindari (Gabriel, 1996).

2.1.5 *Electrical Foot Shock*

Electrical foot shock adalah alat yang digunakan untuk menginduksi stres pada hewan percobaan karena intensitasnya dapat terukur, penjalaran arus listrik cepat, dan tidak ada efek ikutan setelah dilakukan renjatan listrik (Asnar, 2001). Alat ini terdiri dari *panel control* dengan tombol *on/off* dan terdapat kandang perlakuan untuk memberi renjatan. Pada dasar kandang perlakuan terdapat elektroda-elektroda untuk memberi kejutan listrik pada kaki hewan coba (Triwahyudi dan Purwoko, 2010). Dengan alat *electrical foot shock*, frekuensi dan

sesi renjatan listrik dapat ditingkatkan secara bertahap agar stresor tidak mudah diadaptasi oleh hewan coba (Suparno, 2008).

2.2 Imunitas Adaptif

2.2.1 Definisi Imunitas Adaptif

Tubuh manusia mampu membentuk imunitas spesifik yang sangat kuat untuk melawan agen penyerang yang mematikan, seperti bakteri, virus, toksin, dan bahkan jaringan asing yang berasal dari hewan lain. Imunitas semacam ini disebut imunitas didapat atau imunitas adaptif. Imunitas adaptif dihasilkan oleh sistem imun khusus yang membentuk antibodi dan/atau mengaktifkan limfosit yang mampu menyerang dan menghancurkan organisme spesifik atau toksin (Guyton, 2007).

Ada dua jenis imunitas adaptif, yaitu imunitas humoral dan selular (imunitas diperantarai sel). Keduanya bereaksi terhadap antigen, biasanya protein yang asing bagi badan, seperti bakteri atau jaringan asing (Ganong, 1995). Pada imunitas humoral, tubuh membentuk antibodi yang bersirkulasi, yaitu molekul globulin dalam plasma darah yang mampu menyerang agen yang masuk ke dalam tubuh (Guyton, 2007). Ia merupakan pertahanan utama terhadap infeksi bakteri (Ganong, 1995). Sedangkan imunitas selular diperoleh melalui pembentukan limfosit T teraktivasi dalam jumlah besar yang secara khusus dirancang untuk menghancurkan benda asing (Guyton, 2007). Imunitas selular bertanggung jawab bagi reaksi alergi tertunda dan penolakan transplan asing. Ia membentuk pertahanan utama terhadap infeksi karena virus, jamur, dan beberapa bakteri seperti basilus tuberkel (Ganong, 1995).

2.2.2 Limfosit

Imunitas adaptif merupakan produk limfosit tubuh. Orang-orang yang memiliki cacat genetik berupa kekurangan limfosit atau limfositnya telah rusak akibat radiasi atau bahan kimia, tidak dapat membentuk imunitas adaptif. Dalam waktu beberapa hari setelah lahir, pasien seperti ini meninggal akibat infeksi bakteri yang fulminan kecuali bila diobati dengan tindakan yang hebat. Oleh karena itu, jelaslah bahwa limfosit sangat penting untuk kelangsungan hidup manusia (Guyton, 2007).

Limfosit merupakan unsur kunci kekebalan (Ganong, 1995). Limfosit paling banyak ditemukan dalam nodus limfe, namun dapat juga dijumpai dalam jaringan limfoid khusus, seperti limpa, daerah submukosa saluran cerna, timus, dan sumsum tulang. Jaringan limfoid tersebar di lokasi-lokasi yang sangat menguntungkan di dalam tubuh untuk menahan invasi organisme atau toksin sebelum dapat menyebar lebih luas (Guyton, 2007).

Walaupun sebagian besar limfosit dalam jaringan limfoid normal tampak serupa di bawah mikroskop, tetapi sel-sel tersebut secara jelas dapat dibedakan dalam dua kelompok besar. Kelompok pertama, yaitu limfosit T, bertanggung jawab dalam pembentukan limfosit teraktivasi yang dapat membentuk imunitas diperantarai sel, dan kelompok lain, yaitu limfosit B, bertanggung jawab dalam pembentukan antibodi yang memberikan imunitas humoral (Guyton, 2007). Limfosit T dan B tak dapat dibedakan secara morfologi, tetapi dapat dikenali dengan teknik khusus (Ganong, 1995)

Pada masa embrio, kedua macam limfosit ini berasal dari *sel stem hematopoietik pluripoten* yang membentuk limfosit sebagai salah satu hasil diferensiasi sel terpenting. Hampir semua limfosit yang terbentuk akhirnya berada dalam jaringan limfoid, namun sebelum sampai, limfosit berdiferensiasi lebih lanjut atau diolah lebih dahulu (Guyton, 2007).

Limfosit yang dipersiapkan untuk membentuk limfosit T teraktivasi, mula-mula bermigrasi ke kelenjar timus dan diolah lebih dahulu di sana, sehingga limfosit tersebut disebut *limfosit "T"* untuk menunjukkan peranan kelenjar timus. Limfosit ini bertanggung jawab untuk membentuk imunitas yang diperantarai sel atau imunitas selular (Guyton, 2007). Empat jenis sel T berbeda telah dikenali: sel T pembantu/penginduksi, sel T supresor, sel T sitotoksik (yang juga dikenal dengan sel T efektor atau sel pembunuh) dan sel T ingatan. Dua jenis pertama terlibat dalam regulasi produksi antibodi oleh turunan sel B, sedangkan sel T sitotoksik merusak sel yang ditransplantasi dan asing lainnya. Sel T sitotoksik dan supresor umumnya pada permukaannya mempunyai penanda glikoprotein yang dinamai T_8 yang dapat dideteksi oleh antibodi monoklonal, sehingga sering ia dinamai sel T_8 . Sel T pembantu/penginduksi umumnya pada permukaannya mempunyai penanda glikoprotein yang dinamai T_4 dan dinamai sel T_4 (Ganong, 1995).

Kelompok limfosit yang lain, limfosit B yang dipersiapkan untuk membentuk antibodi, mula-mula diolah dulu di hati selama masa pertengahan kehidupan janin, kemudian diolah di sumsum tulang pada masa akhir janin dan sesudah lahir. Kelompok sel ini mula-mula ditemukan pada burung, yang mempunyai organ pengolahan khusus yaitu *bursa Fabricius*. Karena alasan tersebut, limfosit ini disebut *limfosit "B"*, dan bertanggung jawab untuk imunitas humoral (Guyton, 2007). Sel B berdiferensiasi ke sel plasma dan sel B ingatan (Ganong, 1995).

2.2.3 Imunitas Adaptif Rongga Mulut

Rongga mulut berhubungan dengan kelenjar getah bening ekstraoral dan agregasi limfoid intraoral. Kelenjar getah bening ekstraoral terlibat dalam drainase mukosa mulut, gingival, dan gigi, namun demikian dikenal empat kesatuan anatomik dan fungsional jaringan limfoid intraoral, yaitu:

1. Tonsil (palatum dan lingual), merupakan satu-satunya masa limfoid intraoral dengan struktur klasik folikel limfoid, terdiri dari sel B dan sel T perifolikuler. Antigen hanya dapat berpenetrasi langsung melalui epitel yang menyelubungi karena tidak ada limfatik aferen.
2. Sel plasma dan limfosit dari kelenjar saliva. Ditemukan enam kelenjar saliva mayor dan sejumlah kelenjar minor tersebar di bawah mukosa mulut. Kelenjar tersebut menghasilkan IgA yang langsung disekresikan pada permukaan gigi, gusi, dan mulut.
3. Kumpulan sel plasma dan limfosit dalam gingival. Daerah gingival dipengaruhi oleh mekanisme imun yang positif konstan dan berbeda dari daerah saliva. Kumpulan sel plasma dan limfosit dalam gingival ini mempunyai arti penting pada tahap kekebalan terhadap plak gigi. Komponen darah humoral dan selular dapat mencapai permukaan gigi dan epitel dalam rongga mulut melalui aliran cairan sulcus gingiva menembus epitel perlekatan gingival. Struktur dan fungsi epitel perlekatan adalah dalam pengertian biologi antara komponen vaskular dan struktur periodontal. Epitel perlekatan membentuk perlekatan organis pada gigi dan berdampingan dengan epitel sulkus yang berlanjut ke tepi gingival.
4. Sel-sel limfoid yang tersebar dan mungkin bertindak sebagai pengawas yang mungkin terangsang untuk berproliferasi apabila garis pertahanan primer pada mukosa gagal (Barid, 2007).

2.2.4 Mekanisme Pengaktifan Imunitas Adaptif

Makrofag dan sel penampil antigen lain memakan materi asing dan menunjukkan bagian darinya (antigen) ditambah protein kelas I dan II dari kompleks histokompatibilitas utama (MHC = Major Histocompatibility Complex) pada permukaannya. Bila antigen dan protein MHC-II ditampilkan ke limfosit T₄, maka kemudian limfosit T₄ berkontak dengan limfosit B yang telah terpapar ke antigen dan protein MHC-II. Selanjutnya sel B berproliferasi dan mensekresi

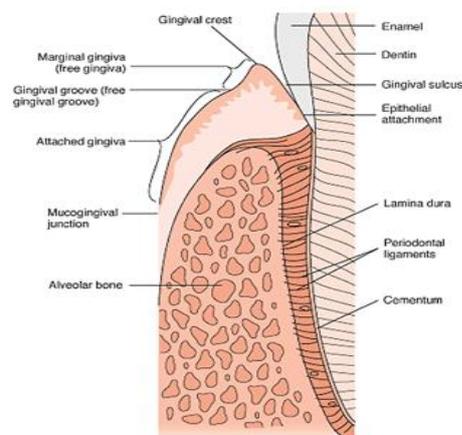
imunoglobulin. Antigen dan protein MHC-I mengaktivasi limfosit T₈ untuk berproliferasi serta membentuk sel T sitotoksik dan supresor (Ganong, 1995).

Makrofag yang telah memakan materi asing mensekresi interleukin-1 (IL-1). Interleukin-1 (IL-1) ada dalam dua bentuk (α dan β) dengan sedikit homologi rangkaian, tetapi sama reseptor dan identik aktivitasnya. Efek IL-1 sangat luas. Ia mencakup aktivasi limfosit B dan T₄ selama aktivasi sistem kekebalan. Sel T₄ yang diaktivasi oleh IL-1 akan menghasilkan interleukin-2 (IL-2) yang menyebabkan proliferasi sel T₈ dan sel B (Ganong, 1995).

2.3 Gingiva

2.3.1 Pengertian Gingiva

Menurut Carranza (2006), gingiva merupakan bagian dari mukosa rongga mulut yang menutupi bagian prosesus alveolaris dari rahang dan daerah sekitar leher gigi. Secara anatomis, gingiva terdiri dari *marginal gingiva*, *attached gingiva*, dan *interdental papila*.



Gambar 2.1 Anatomi Landmarks gingiva

Sumber: Carranza, 2006

2.3.2 Struktur Histologi Gingiva

2.3.2.1 Jaringan Epitel Gingiva

Carranza (2006) membagi epitel gingiva menjadi 3 daerah yang berbeda yaitu:

a. *Oral epithelium*

Jaringan epitel yang menutupi permukaan luar *free gingiva* dan *attached gingiva*. Jaringan epitel tersebut terdiri dari epitel pipih berlapis yang berkeratin dan parakeratin terdiri dari 4 lapisan sel. Jaringan epitel pada margin gingiva dan *attached gingiva* memiliki ketebalan dan karakter yang seragam. Bagian epitel yang berbatasan dengan jaringan ikat membuat bentukan seperti rigi (retepeg) yang mempunyai jari diantara tonjolan-tonjolan (papilla) jaringan ikat. Jaringan epitel berbatasan dengan jaringan ikat di bawahnya oleh suatu daerah yang disebut lamina basal atau membran basalis. Lamina basal terdiri dari lapisan amorph agak padat disebut lamina densa ketebalannya 400-600 Å^o terpisah dari membran sel epitel oleh suatu ruangan yang lebarnya 250-450 Å^o disebut lamina lucida. Membran basalis tidak tembus oleh pembuluh darah atau pembuluh getah bening, semua pertukaran metabolik terjadi melalui struktur membran ini.

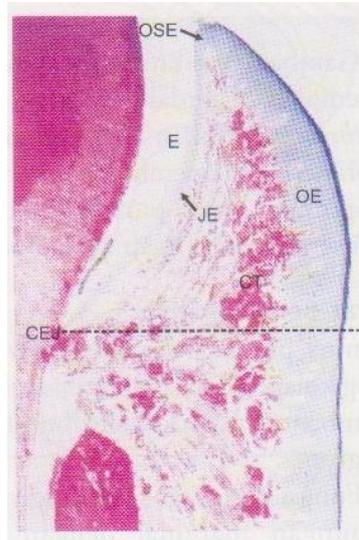
b. *Sulcular epithelium*

Sulcular epithelium terdiri dari jaringan epitel berlapis pipih tidak berkeratin tanpa retepeg, lebih tipis, melapisi sulkus gingiva dari koronal junctional epithelium menuju puncak gingiva margin. *Sulcular epithelium* sangat penting karena berfungsi sebagai membran semi permeabel dimana bakteri yang masuk ke gingiva dan cairan gingiva meresap masuk ke dalam sulkus gingiva.

c. *Junctional epithelium*

Junctional epithelium terdiri dari jaringan epitel berlapis pipih tidak berkeratin. Pada awal kehidupan terdiri dari 3 atau 4 lapisan sel, jumlah lapisan ini meningkat menjadi 20-30 lapisan seiring bertambahnya umur, panjang berkisar antara 0,025-1,35 mm. *Junctional epithelium* melekat pada

permukaan gigi (*epithelial attachment*) melalui lamina basal seperti perlekatan epitel pada jaringan lain.



Gambar 2.2 Histologi epitel gingiva normal

Sumber: Putri *et al.*, 2011

OSE = *sulcular epithelium*; E = email; OE = *oral epithelium*; CT = jaringan ikat; CEJ = pertautan sementoemail; JE = *junctional epithelium*.

2.3.2.2 Jaringan Ikat Gingiva

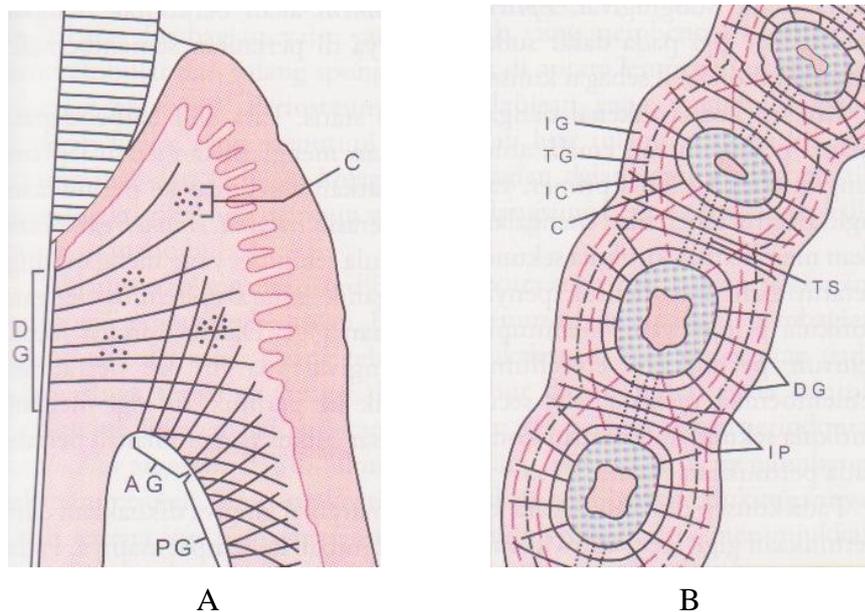
Jaringan ikat gingiva disebut juga dengan lamina propria, terdiri dari komponen seluler dan komponen ekstraseluler. Komponen seluler terdiri dari fibroblas, sel mast, makrofag, limfosit, dan sel plasma. Sedangkan komponen ekstraseluler terdiri dari serabut gingiva berupa kolagen, retikular, dan elastin, bahan dasar yang mengisi ruang antar sel dan serabut gingiva, pembuluh darah, pembuluh limfe, dan saraf (Carranza, 2006).

Serabut gingiva berfungsi untuk:

- a. Melekatkan *marginal gingiva* terhadap gigi
- b. Memelihara rigiditas gingiva untuk menahan daya kunyah
- c. Menyatukan *free marginal gingiva* dengan sementum dan *attached gingiva* (Carranza, 2006).

Serabut gingiva dikelompokkan dalam beberapa grup, yaitu:

- Grup dentogingiva adalah serabut *free gingiva* yang melekat pada sementum dan melebar keluar dan ke atas dari *marginal gingiva* untuk bergabung dengan periosteum dari daerah *attached gingiva*.
- Grup alveolar gingiva keluar dari puncak alveolar dan berjalan ke koronal ke arah gingiva.
- Grup sirkuler adalah serabut yang mengelilingi gigi. Serabut ini melekatkan gingiva ke tulang alveolar.
- Grup intergingival meluas dalam arah mesiodistal sepanjang lengkung gigi.
- Grup interpapilari berhubungan pada bagian oral dan vestibular interdental pada gigi posterior
- Grup transgingival meluas dari sementum dekat pertautan sementoemail dan berjalan secara horisontal di antara dua gigi berdekatan (Putri *et al.*, 2011)



Gambar 2.3 Serabut gingiva

Sumber: Putri *et al.*, 2011

DG = serat dentogingiva; C = serat sirkuler; AG = serat alveolar gingival; PG = serat periosteal gingival; IG = serat intergingival; TG = serat transgingival; IC = serat interseluler; TS = serat transeptal; IP = serat interpapilari.

2.4 Pengaruh Stresor Renjatan Listrik Terhadap Imunitas Adaptif

Stresor renjatan listrik dapat mempengaruhi sistem imun melalui aksis hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA) dan *autonomic nervous system* (ANS) (Prayitno, 2010). Paparan stresor fisik (renjatan listrik) merangsang aksis HPA serta terkait dengan dampak stres, seperti peningkatan kadar kortisol dan katekolamin yang berhubungan erat dengan kadar serotonin dan dopamin dalam otak. Peningkatan kadar kortisol berkorelasi positif dengan peningkatan kadar katekolamin yang meliputi adrenalin, norepinefrin, dan dopamin (Suparno, 2008). Kadar kortisol yang tinggi akan menekan pengaktifan dan proliferasi limfosit secara nyata (Ganong, 1995; Guyton, 2007; Suparno, 2008).

Stresor renjatan listrik juga dapat merangsang saraf simpatis untuk melepaskan norepinefrin. Selain itu, saraf simpatis untuk medula adrenal juga menyebabkan kelenjar ini mensekresi norepinefrin dan epinefrin ke dalam darah (Guyton, 2007). Peningkatan epinefrin yang terus-menerus dapat menyebabkan penurunan sistem imun secara keseluruhan yang ditandai dengan mudahnya seseorang terserang penyakit (Arifah dan Purwanti, 2008).

Menurut penelitian Isnarni (2005), syok listrik pada tikus *wistar* jantan dapat mengakibatkan penurunan jumlah yang nyata dari limfosit darah tepi tikus *wistar* jantan tersebut. Kondisi stres akibat stresor renjatan listrik dapat memicu sekresi glukokortikoid, selanjutnya menekan jumlah limfosit T sehingga mengubah keseimbangan limfosit T serta mengganggu maturasi limfosit B untuk menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi. Perubahan ini selain menurunkan respon imun, juga akan memicu proses imunopatologis yang merugikan tubuh.

2.5 Manifestasi Penurunan Imunitas Adaptif di Rongga Mulut

Tanda oral sering ditemukan pada individu dengan defisiensi limfosit. Tanda oral yang paling jelas pada kelompok individu ini adalah kandidiasis oral yang kronis. Lesi tersebut adalah luas dan letaknya dalam. Lesi tidak mudah

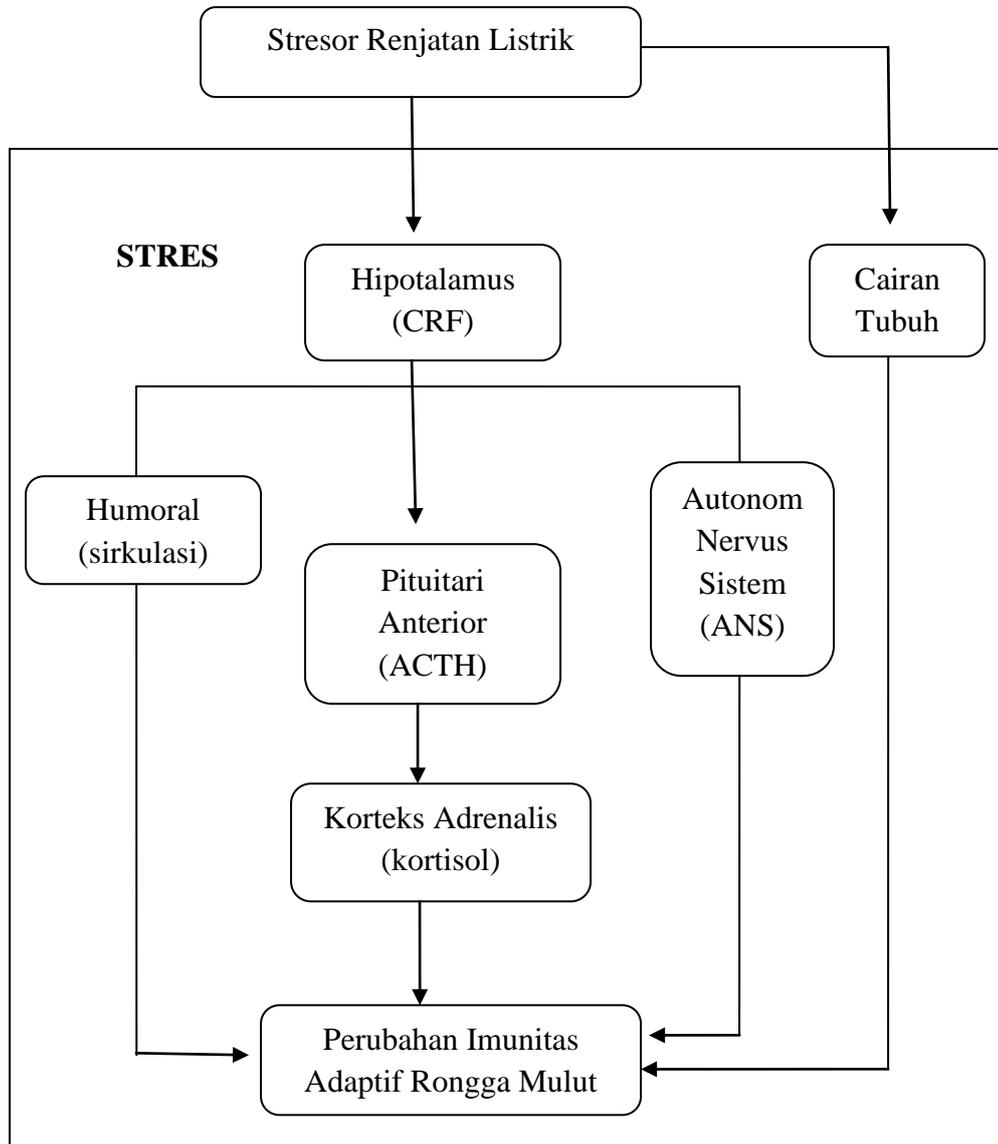
dibersihkan dari mukosa dan biopsi menunjukkan ragi yang terletak dalam di epitel (Rose dan Kaye, 1997).

Infeksi virus herpes simplex juga sering ditemukan pada individu dengan defisiensi limfosit. Individu tersebut mungkin memiliki infeksi herpes simplex primer yang menjadi menyebar. Lebih sering mereka mengalami infeksi herpes luas yang rekuren yang mengenai bibir dan mukosa intraoral (Rose dan Kaye, 1997).

2.6 Kerangka Konseptual Penelitian

Renjatan listrik mempengaruhi fungsi sistem imun adaptif rongga mulut, selain dapat melalui jalur humoral dan cairan tubuh, juga dapat melalui saraf. Cairan tubuh dapat meneruskan sinyal listrik karena cair tubuh merupakan volume konduktor yang baik (Guyton, 2007). Stresor renjatan listrik menyebabkan kondisi stres, sehingga terjadi peningkatan CRF hipotalamus, disamping melalui aksis HPA, CRF secara langsung melalui sirkulasi (humoral). Stresor renjatan listrik kemungkinan dapat dirambatkan melalui sistem saraf autonom, yaitu saraf parasimpatis dan simpatis. Susunan saraf autonom terutama diaktifkan oleh pusat-pusat yang terletak di dalam medula spinalis, batang otak, dan hipotalamus, juga semua sistem limbik dapat mengirimkan isyarat ke pusat-pusat yang lebih rendah dan dengan jalan ini mempengaruhi pengendalian autonom. Susunan saraf autonom sering bekerja melalui refleks autonom (Guyton, 2007).

Secara umum uraian di atas dapat dibagikan sebagai berikut:



Gambar 2.4 Jalur Stresor Renjatan Listrik

Gambar di atas menunjukkan stresor renjatan listrik dapat mempengaruhi sistem imun adaptif rongga mulut selain melalui aksis HPA, juga melalui jalur humoral, cairan tubuh, dan sistem saraf autonom (ANS).

2.7 Hipotesis

Stresor rasa sakit menurunkan jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus wistar jantan.

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 only control group design* (Notoatmodjo, 2002).

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus-Oktober 2011.

3.1.3 Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember dan laboratorium Biomedik bagian 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 limfosit pada sediaan jaringan *attached gingiva* tikus

3.2.3 Variabel Terkendali

- a. Makanan standar tikus wistar dan minuman tikus wistar
- b. Cara pemeliharaan tikus
- c. Prosedur penelitian
- d. Dosis dan voltage 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 5-30 mAmpere (rata-rata 25 mAmpere), pada tegangan listrik 25 Volt, dengan frekuensi 60 Hz.

3.3.2 *Attached Gingiva*

Merupakan 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 pembedahan jaringannya arah okluso-apikal.

3.3.3 Jumlah Limfosit

Jumlah limfosit adalah jumlah sel limfosit yang tampak secara histologis merupakan sel darah putih agranuler dengan inti hampir memenuhi sel dan sifat intinya gelap atau *dense cromatine type* yang ditemui pada sediaan jaringan mukosa gingival tikus wistar jantan. Penghitungan dilakukan melalui preparat histologis jaringan mukosa gingival menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran

1000x dengan menggunakan *emerrsen oil xylol tissue lenissa* yang diteteskan di atas sediaan kemudian dihitung jumlah limfosit pada tiga lapang pandang.

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 belum 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 : Prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,8)

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. *Blade Scalpel*
7. Peralatan untuk membuat preparat
8. Mikroskop binokuler (Leica, USA)

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 Fakultas MIPA Universitas Jember selama satu minggu.
2. Tikus diberi makanan 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

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

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

Tikus wistar dilakukan pemberian stresor *electrical foot shock*, dikorbankan pada hari ke 15 dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan sampel mukosa gingiva untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel limfosit.

2. Pemberian renjatan listrik pada kelompok perlakuan dengan *electrical foot shock* kuat arus 5-30 mAmpere (rata-rata 25 mAmpere), pada tegangan listrik 25 Volt dengan frekuensi 60 Hz, berpedoman pada penelitian Triwahyudi dan Purwoko (2010) :

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 Pengambilan Jaringan Gingiva

Pada hari ke-15, tikus dikorbankan dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan gingiva. Gingiva yang sudah diambil dilakukan fiksasi dengan menggunakan formalin 10% selama 24 jam.

3.6.4 Tahap Pemrosesan Jaringan

Tahap pemrosesan jaringan dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Tahap pemrosesan jaringan ini berfungsi untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan mikrotom. Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut:

1. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi (bertingkat). Tahapan dehidrasi antara lain:

- a. Alkohol 70% : 15 menit
- b. Alkohol 80% : 1 jam
- c. Alkohol 95% : 2 jam
- d. Alkohol 95% : 1 jam
- e. Alkohol 100% : 1 jam
- f. Alkohol 100% : 1 jam
- g. Alkohol 100% : 1 jam

2. Clearing

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan clearing. Bahan-bahan yang dapat digunakan antara lain: xylol, toluen, dan benzen. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan xylol. Tahapan *clearing* antara lain:

1. Xylol : 1 jam
2. Xylol : 2 jam
3. Xylol : 2 jam

3. Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56° - 60° C. Caranya yaitu 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 antara lain:

1. Paraffin (56° - 58° C) : 2 jam
2. Paraffin (56° - 58° C) : 2 jam
3. Paraffin (56° - 58° C) : 2 jam

4. Embedding

Embedding merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*. Bahan-bahan yang dapat digunakan untuk menanam jaringan antara lain: paraffin, *cellulose*, dan *tissue text*. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan paraffin TD 56° - 60° C.

5. Penyayatan

Dibuat sebanyak tiga sayatan pada masing-masing sediaan jaringan sampel. Sebelum dilakukan penyayatan jaringan, sebelumnya dilakukan beberapa persiapan, antara lain:

- a. Mengolesi *obyek glass* dengan *meyer egg albumin*.
- b. Menempelkan blok paraffin pada *block holder* mikrotom dengan bantuan pemanasan.

Setelah itu, dilakukan proses penyayatan jaringan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Penyayatan menggunakan mikrotom, dimana sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan xylol dengan arah tegak lurus.
2. Mengatur ketebalan sayatan mikrotom sesuai dengan kebutuhan.
3. Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56° - 58° C hingga sayatan mekar.
4. Mengambil sayatan yang telah mekar dengan *obyek glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan di atas *hot plate*, kemudian dimasukkan dalam oven dengan suhu sekitar 30° - 35° C minimal selama 12 jam (Syafriadi, *et al.*, 2006).

3.6.5 Tahap Pewarnaan Jaringan

Pewarnaan di laboratorium Patologi Anatomi menggunakan bahan cat haematoksilin eosin dengan tahap-tahap sebagai berikut:

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. Mayer's haematoksilin : 15 menit
9. Air mengalir/air hangat : 20 menit
10. Eosin : 15 detik - 2 menit
11. Alkohol 95% : 2-3 menit
12. Alkohol 95% : 2-3 menit
13. Alkohol absolut : 2-3 menit
14. Alkohol absolut : 2-3 menit
15. Xylol : 3 menit
16. Xylol : 3 menit
17. Xylol : 3 menit
18. Mounting

(Syafriadi *et al.*, 2006)

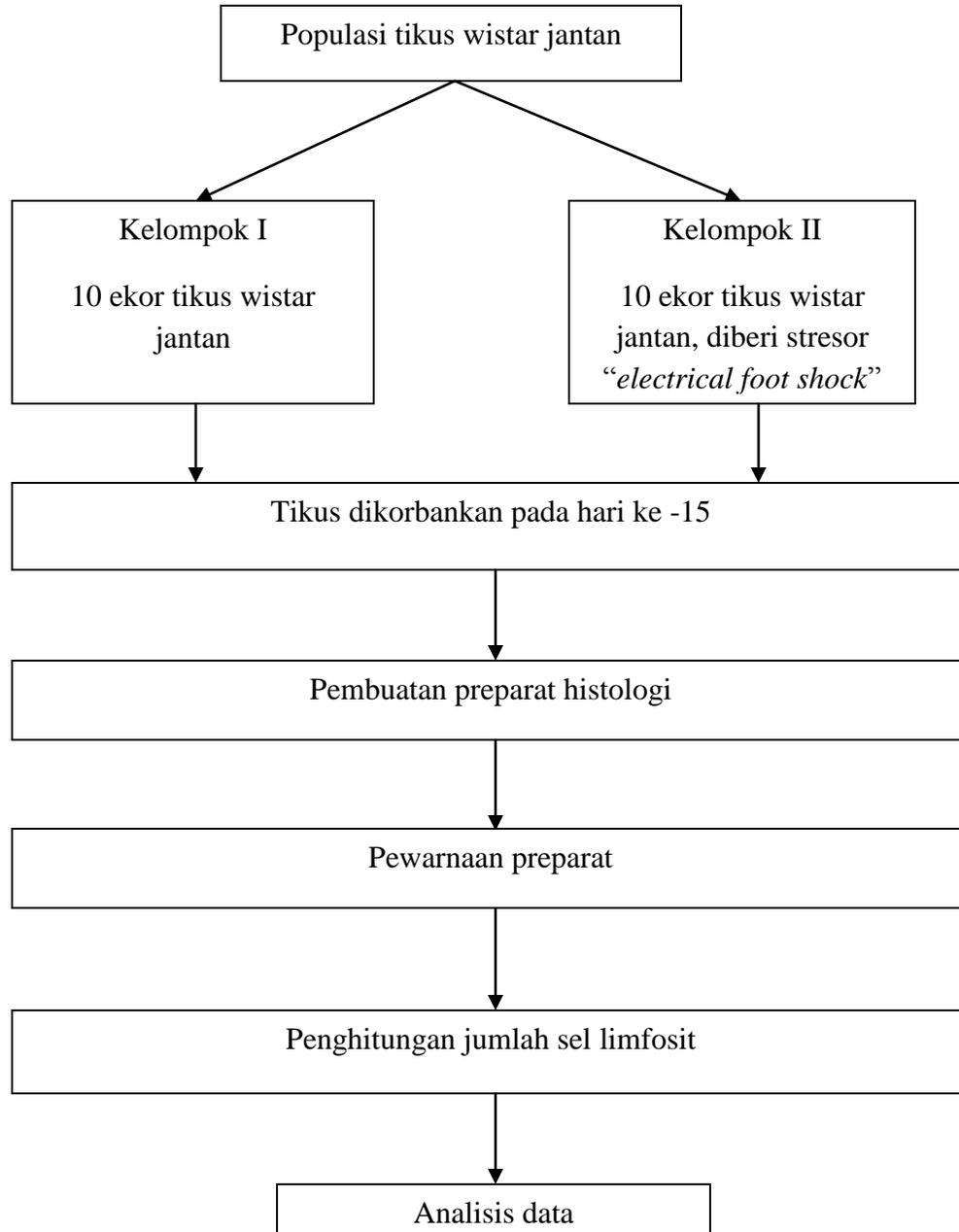
3.7 Tahap Pengamatan

Pengamatan pada sediaan histologis dari kedua kelompok tikus tersebut menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 1000x dengan menggunakan *emerrsen oil xylol tissue lenissa* yang ditetaskan di atas sediaan kemudian dihitung rata-rata jumlah limfosit di daerah lamina propria mukosa gingiva pada tiga lapang pandang di setiap sayatan sediaan.

3.8 Analisis Data

Berdasarkan perhitungan jumlah limfosit dari dua kelompok sampel di atas diperoleh data dengan skala rasio, 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* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$).

3.9 Alur Penelitian



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

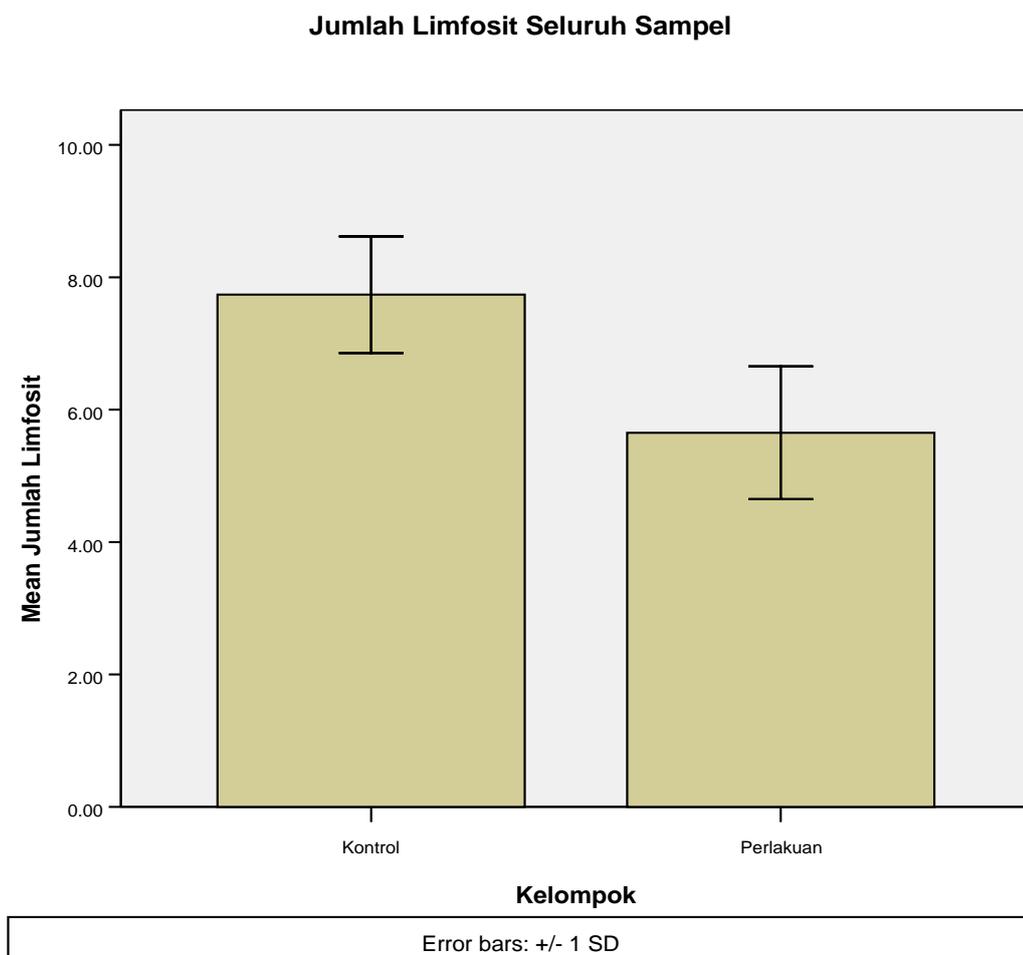
Penelitian mengenai pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah limfosit gingiva tikus wistar jantan telah dilaksanakan pada bulan Agustus sampai Oktober 2011. Besar sampel sejumlah 20 ekor tikus *wistar* jantan yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan perlakuan yang masing-masing sebesar 10 ekor. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh data-data yang ditunjukkan pada Tabel 4.1:

Tabel 4.1 Rata-rata jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol dan perlakuan dari ketiga lapang pandang pada tiap sampel

Sampel	Kontrol	Perlakuan
1	8,00	6,70
2	7,43	8,00
3	8,53	5,30
4	8,47	5,20
5	8,90	5,77
6	8,43	4,90
7	6,70	4,57
8	7,77	5,13
9	6,67	5,37
10	6,47	5,57
Rata-rata	7,74	5,65
Standar Deviasi	0,88	1,00

Dari data pada tabel 4.1, dapat dilihat rata-rata jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol sebesar 7,74, sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 5,65, dimana terdapat selisih sebanyak 2,09. Hal ini juga dapat dilihat melalui

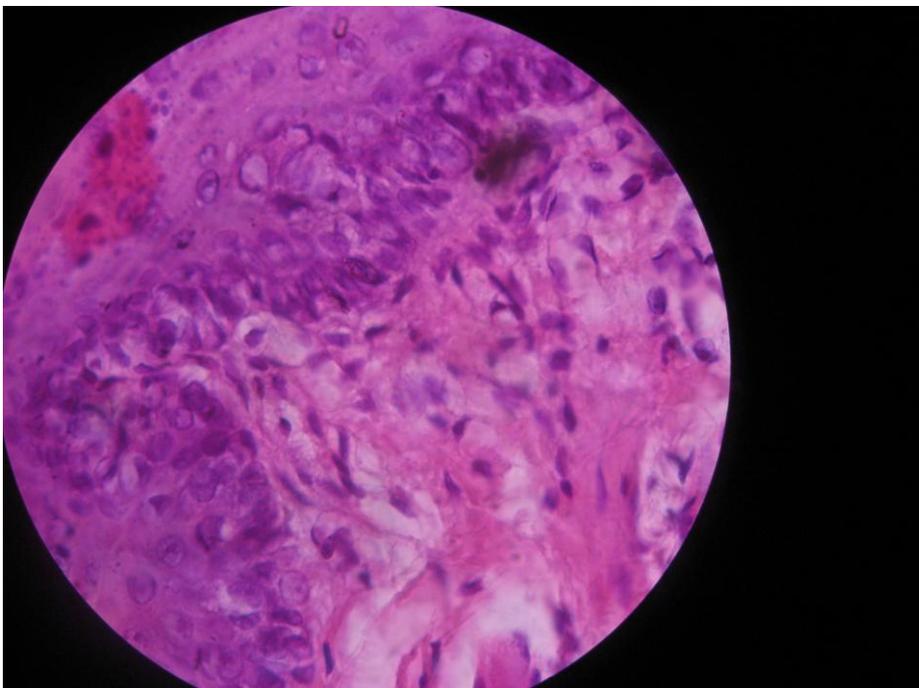
grafik batang pada gambar 4.1, yaitu jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol lebih tinggi daripada kelompok perlakuan.



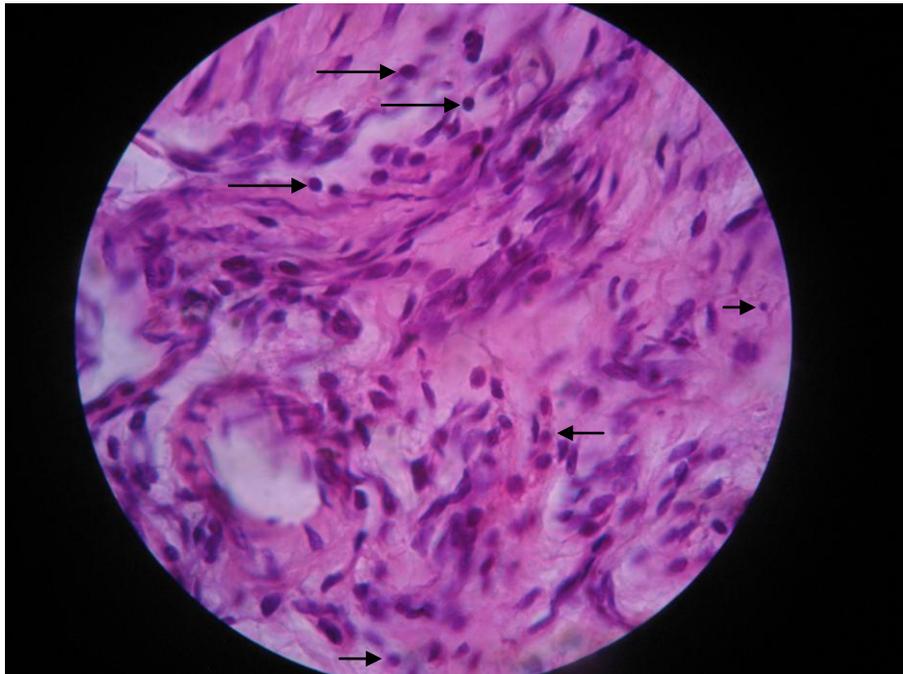
Gambar 4.1 Grafik perbandingan jumlah sel limfosit kelompok kontrol dan perlakuan seluruh sampel



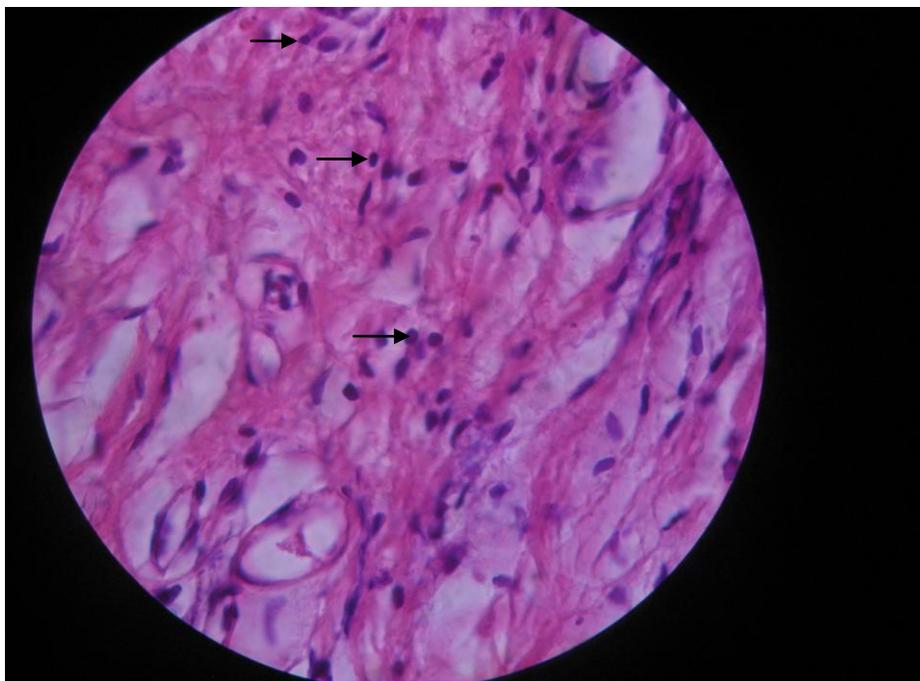
Gambar 4.2 Sediaan histologis gingiva tikus wistar jantan dengan perbesaran 45x. Daerah yang dilingkari adalah daerah penghitungan



Gambar 4.3 Daerah penghitungan dengan perbesaran 1000x



Gambar 4.4 Sel limfosit (diberi tanda panah) pada sediaan gingiva tikus wistar jantan kelompok kontrol



Gambar 4.5 Sel limfosit (diberi tanda panah) pada sediaan gingiva tikus wistar jantan kelompok perlakuan

Gambar 4.4 dan 4.5 merupakan hasil pengamatan dan perhitungan sel limfosit pada jaringan gingival tikus wistar jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan menggunakan mikroskop binokuler, memakai perbesaran 1000x dengan menggunakan *emmersen oil tissue lennisa*. Tampak jelas perbedaan jumlah limfosit antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada dua lapang pandang di atas tampak jumlah sel limfosit pada kelompok perlakuan jauh lebih sedikit dibandingkan jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol.

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 limfosit pada tiap-tiap kelompok

		jumlah limfosit
N		20
Normal Parameters ^a	Mean	6.6940
	Std. Deviation	1.41026
Most Extreme Differences	Absolute	.144
	Positive	.144
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.643
Asymp. Sig. (2-tailed)		.802

Tabel 4.2 menunjukkan nilai hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* adalah 0,802. 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 limfosit pada tiap-tiap kelompok

Levene's Test for Equality of Variances		
	F	Sig.
Equal variances assumed	.016	.899

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

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

t-test for Equality of Means				
T	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
4.943	18	.000	2.08600	.42205

Hasil analisis data dengan *T-Test* pada tabel 4.4 di atas memperlihatkan bahwa jumlah limfosit antara kontrol dan perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna, terlihat bahwa nilai probabilitas sig. (2-tailed) adalah 0,000 ($p < 0,05$) artinya ada perbedaan bermakna antar dua kelompok.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini berada dalam ruang lingkup penelitian yang bertujuan mengungkap perubahan-perubahan pada rongga mulut akibat stresor. Penelitian jenis eksperimental laboratoris dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih dapat dipercaya. Pemberian stresor *electrical foot shock* dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng kuningan di dasar kandang perlakuan tempat kaki tikus berpijak berpedoman pada penelitian Sumintarti (dalam Asnar, 2001) yang ternyata bisa meningkatkan kadar kortisol dalam darah dan mencapai puncak pada hari ketujuh.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember dan laboratorium Biomedik bagian Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, didapatkan bahwa stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dengan intensitas renjatan yang telah ditentukan berpengaruh terhadap perubahan jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus wistar jantan. Setelah dilakukan pengamatan kemudian diuji statistik pada jumlah limfosit antara kelompok kontrol tanpa diberi stresor dengan kelompok perlakuan yang diberi stresor berupa renjatan listrik, didapatkan hasil bahwa kelompok perlakuan berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus wistar jantan lebih sedikit pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol dengan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa paparan stresor berupa *electrical foot shock* dapat menurunkan imunitas gingiva yang pada akhirnya akan menurunkan imunitas rongga mulut khususnya imunitas adaptif rongga mulut.

Durasi dan intensitas pemaparan stresor pada hewan coba diberikan secara berkelanjutan sehingga menyebabkan hewan coba berada dalam ambang stres dan tidak ada proses adaptasi. Hal ini dikarenakan stresor yang dipaparkan secara berlebihan dan semakin lama dapat mengakibatkan daya adaptif hewan coba menjadi habis sehingga hewan coba memasuki tahap kelelahan atau *exhaustion stage*. Pada tahap kelelahan ini sekresi kortisol sangat tinggi dan telah

memiliki dampak mengganggu seperti menurunkan imunitas hewan coba untuk melawan berbagai infeksi. Namun sebaliknya, jika stresor dipaparkan dalam waktu yang singkat dan tidak berkelanjutan, maka akan hanya terjadi reaksi peringatan sebagai respon tubuh. Pada fase reaksi peringatan ini, hewan coba masih bisa beradaptasi dengan stresor yang diterimanya. Bisa dikatakan hewan coba ini belum berada dalam kondisi stres (Selye, 1982).

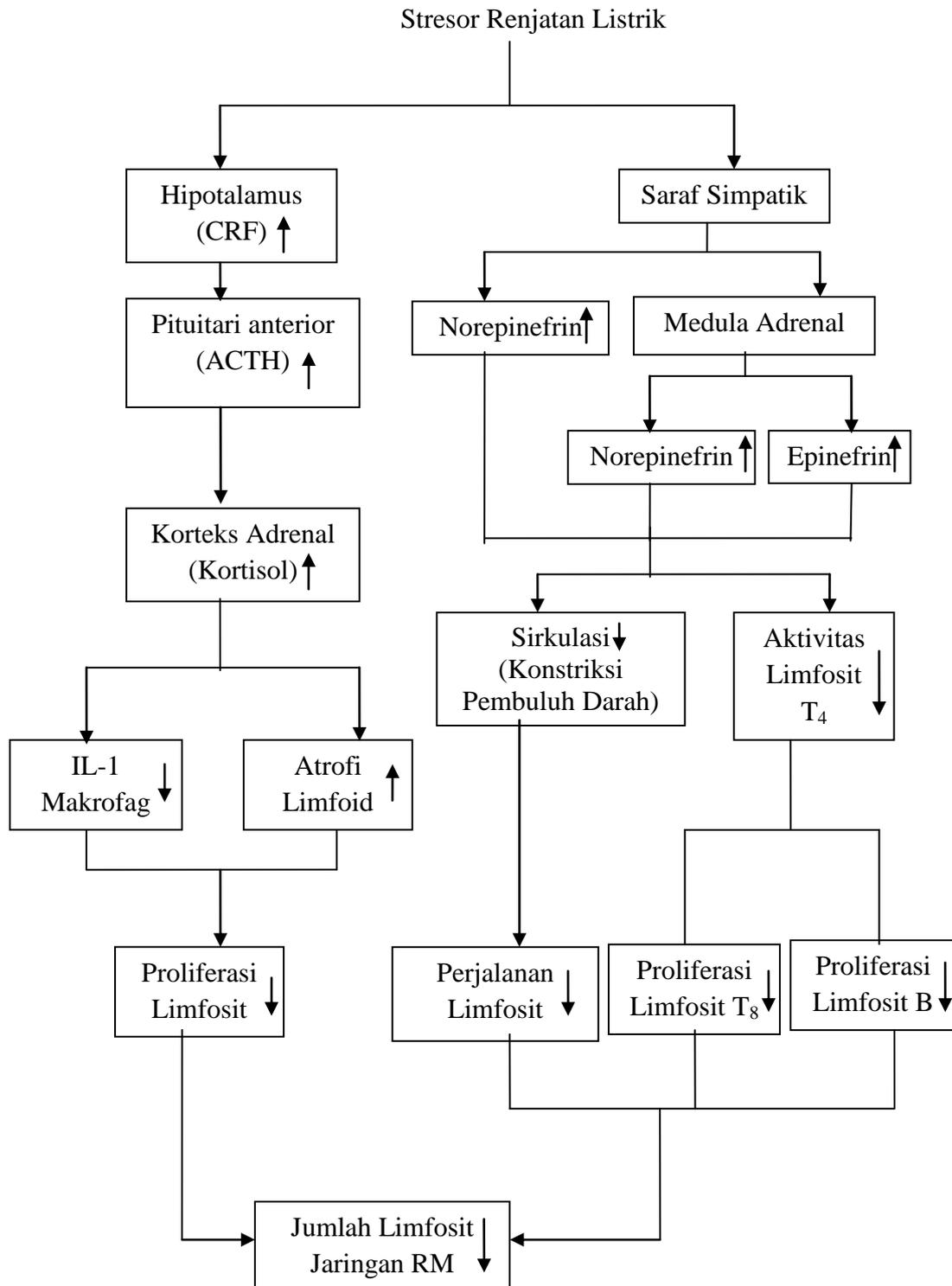
Stresor renjatan listrik dapat mempengaruhi imunitas melalui dua jalur, yaitu aksis hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA) dan *autonomic nervous system* (ANS) (Prayitno, 2010). Pertama-tama, rangsangan sakit yang disebabkan oleh jenis stresor fisik atau kerusakan jaringan dihantarkan ke atas melalui batang otak dan akhirnya ke eminensia mediana hipotalamus. Stresor akan memicu hipotalamus untuk mensekresi *Corticotropin Releasing Factor* (CRF), suatu senyawa yang sekaligus berfungsi sebagai neurotransmitter dan sebagai hormon (neurohormon). CRF akan memasuki peredaran darah vena yang menghubungkan hipotalamus dan hipofisis. Melalui peredaran darah, CRF akan mencapai hipofisis dan peningkatan CRF pada reseptor sel ini akan memicu sintesis protein pro-opiomelanocortin (POMC). Pengolahan pasca translasi POMC akan menghasilkan sejumlah polipeptida antara lain *Adrenocorticotropic Hormone* (ACTH). ACTH melalui peredaran darah akan mencapai kelenjar adrenal dan merangsang pembuatan kortikosteroid untuk memicu hormon glukokortikoid atau kortisol. (Guyton, 2007).

Kadar kortisol yang tinggi akan menghambat pelepasan interleukin-1 (α dan β) dari makrofag sehingga akan menekan pengaktifan dan proliferasi limfosit secara nyata (Ganong, 1995; Guyton, 2007; Suparno, 2008). Selain itu, kadar kortisol yang tinggi akan menyebabkan atrofi yang bermakna pada jaringan limfoid di seluruh tubuh, yang kemudian akan mengurangi keluarnya sel-sel T dan antibodi dari jaringan limfoid. Akibatnya, tingkat kekebalan terhadap sebagian besar benda asing yang memasuki tubuh akan berkurang (Guyton, 2007).

Kedua, stresor renjatan listrik dapat merangsang saraf simpatis untuk melepaskan norepinefrin. Selain itu, saraf simpatis untuk medula adrenal juga menyebabkan kelenjar ini mensekresi norepinefrin dan epinefrin ke dalam darah. Hormon-hormon ini kemudian bersirkulasi ke seluruh area tubuh dan menyebabkan efek yang hampir sama dengan perangsangan simpatis langsung terhadap sirkulasi (Guyton, 2007). Serat saraf noradrenergik berjalan dalam pleksus yang berbatasan dengan sel-sel otot polos pembuluh darah dalam organ limfoid, sehingga diduga bahwa norepinefrin dilepaskan dari serat-serat ini dan berperan penting dalam mengontrol aliran darah ke organ dan akhirnya berpengaruh terhadap perjalanan limfosit. Norepinefrin dilepaskan dari serat saraf perivaskuler atau parenkim mempengaruhi sel-sel limfoid dan berpengaruh kuat dalam imunomodulator. Baik norepinefrin yang dilepaskan secara langsung dari serat saraf ini maupun norepinefrin dan epinefrin yang disekresikan dari medula adrenal akan menghambat limfosit T helper untuk mensekresikan IL-2 sehingga pada akhirnya akan menghambat proliferasi limfosit T sitotoksik dan limfosit B (Elenkov *et al.*, 2000).

Menurut Roitt (dalam Arifah, 2008), proliferasi limfosit B terjadi pada *germinal center* folikel sekunder kelenjar getah bening. Berdasarkan hasil penelitian Arifah dan Purwanti (2008), epinefrin dapat menurunkan diameter dan jumlah *germinal center* akibat penurunan proliferasi dan peningkatan kecepatan apoptosis limfosit B yang berada dalam *germinal center*, sehingga secara umum menyebabkan penurunan sistem imun spesifik tubuh. Peningkatan epinefrin yang terus-menerus dapat menyebabkan penurunan sistem imun secara keseluruhan yang ditandai dengan mudahnya seseorang terserang penyakit. Hal ini dapat disebabkan karena menurunnya produksi sel plasma akibat menurunnya jumlah *germinal center*.

Dari uraian tersebut di atas, baik teori maupun hasil penelitian sebelumnya, dapat diketahui alasan mengapa dalam penelitian ini jumlah limfosit pada kelompok yang dipapar stresor renjatan listrik jauh lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak dipapar stresor.



Gambar 4.6 Diagram Pengaruh Stresor Renjatan Listrik terhadap Jumlah Limfosit Jaringan Rongga Mulut

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Stresor rasa sakit berupa *electrical foot shock* dapat menurunkan jumlah limfosit pada jaringan gingiva yang pada akhirnya akan menurunkan imunitas adaptif rongga mulut tikus wistar jantan.

5.2 Saran

Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya dengan menggunakan variabel yang berbeda.

DAFTAR BACAAN

- Arifah, S. dan Purwanti, O.S. 2008. Pengaruh Pemberian *Epineprin Hidrokortison* Terhadap Jumlah Dan Diameter *Germinal Center* Kelenjar Getah Bening Tikus Putih Jantan Wistar. *Berita Ilmu Keperawatan*, **1** (3): 101-106.
- Asnar, E.T.P. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin Dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Sistem Imun Mukosal Tikus Yang Stress Akibat Stressor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi*. Disertasi Program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Baker, H.J. 1980. *The Laboratory Rat*. Vol 1. Research Application. Sandiego: Academic Press Inc.
- Barid, I. 2007. *Biologi Mulut I*. Jember: Jember University Press.
- Carranza, F. A. 2006. *The Gingivectomy Technique in Carranza's Clinical Periodontology*. 10th Edition. Philadelphia: W. B. Saunders Co.
- Elenkov, Wilder, Chrousos, dan Vizi. 2000. The Sympathetic Nerve An Integrative Interface between Two Supersystems: The Brain and The Immune System. *Pharmacol Rev*, **52**: 595-638.
- Gabriel, J.F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Ganong, W.F. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 14. Alih bahasa oleh Petrus Andrianto. Jakarta: EGC.

- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Alih bahasa oleh Irawati *et al.* Jakarta: EGC.
- Howe, L.G. dan Whitehead, F.I.H. 1992. *Anastesi Lokal*. Edisi 3. Alih bahasa oleh Lilian Yuwono. Jakarta: Hipokrates.
- Isnarni, E. 2005. "Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Total Dan Hitung Jenis Leukosit Darah Tepi". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: FKG Universitas Jember.
- Kusumawardani, B. dan Sari, D.S. 2007. Dampak Stres Dan Psikososial Terhadap Keperawatan Penyakit Periodontal Pada Pengungsi Pasca Banjir Bandang Di Desa Kemiri, Panti, Jember. *Dentika Dental Journal*, **12** (1): 1-4.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisi. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Prayitno, A. 2010. Stressor, Sakit, dan Sehat. *CDK*, **178**: 383-387.
- Priandini, D. dan Subita, G.P. 1999. Pengaruh Faktor Psikogenik Sebagai Penyebab Sindroma Mulut Terbakar. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi (Dent. J)* Edisi Khusus Forum Ilmiah VI 1999, **2**: 22-27.
- Putri, M. H., Herijulianti, E., dan Nurjannah, N., 2011. *Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi*. Jakarta: EGC.
- Rose, L.F. dan Kaye, D. 1997. *Buku Ajar Penyakit Dalam Untuk Kedokteran Gigi*. Jilid 1. Edisi 2. Alih bahasa oleh Widjaja Kusuma. Jakarta: Binarupa Aksara.

- Selye, H. 1982. "History and Present Status of The Stress Concept". Dalam *Handbook of Stress Theoretical and Clinical Aspect*. Editor: Goldbelger, L. dan Broznitz, S. New York: Coler Mac William PJG.
- Steel, R.G.D. dan Torrie, J.H. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Alih bahasa oleh Bambang Sumantri. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- 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: 334-337.
- Suparno. 2008. Pengaruh Stresor Fisik Terhadap Distribusi Sert dan Indeks Apoptosis Hipokampus. *Berkala Penelitian Hayati*, **14**: 79-90.
- Syafriadi, Kusumawardani, Setyorini, dan Joelianto. 2006. "Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi Degenerasi dan Radang". Tidak Diterbitkan. Jember: Laboratorium Patologi Anatomi FKG Universitas Jember.
- Triwahyudi, Z.E. dan Purwoko, Y. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Eurycoma Longifolia* Terhadap Tubulus Seminiferus Mencit Balb/C Jantan Yang Dibuat Stres Dengan Stresor Renjatan Listrik. *Media Medika Muda*, **4**: 45-50.
- Vogel, F.R. 2006. *Stress In The Workplace: The Phenomenon, Some Key Correlates and Problem Solving Approach*. Disertasi. Pretoria: Faculty of Humanities, University of Pretoria.

LAMPIRAN A

Penghitungan sampel

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

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 : Prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,8)

α, D, δ : merupakan simpangan baku dari populasi

Maka hasil penghitungan besar sampel adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} n &= \frac{(1,96 + 0,85)^2 \delta^2}{\delta^2} \\ &= 2,81^2 \times 1 \\ &= 7,896 \text{ dibulatkan menjadi } 8 \end{aligned}$$

Jadi besar sampel minimal berdasarkan rumus di atas adalah sebesar 8 sampel untuk masing-masing kelompok.

LAMPIRAN B

Tabel Hasil Penelitian

B.1 Tabel Hasil Penelitian Kelompok Kontrol

SAMPEL	LAPANG PANDANG			RATA-RATA
	I	II	III	
1A	10	8	5	7,7
B	7	8	9	8
C	11	6	8	8,3
	RATA-RATA			8,00
2A	7	8	5	6,7
B	12	7	6	8,3
C	10	6	6	7,3
	RATA-RATA			7,43
3A	7	9	9	8,3
B	9	8	10	9
C	9	7	9	8,3
	RATA-RATA			8,53
4A	8	10	8	8,7
B	8	9	7	8
C	8	9	9	8,7
	RATA-RATA			8,47
5A	11	8	7	8,7
B	12	7	7	8,7
C	11	9	8	9,3
	RATA-RATA			8,90

Keterangan:

A, B, dan C adalah Jenis Sayatan

Mengetahui,

Laboran

Sri Wahyuningsih, AM.d.

SAMPSEL	LAPANG PANDANG			RATA-RATA
	I	II	III	
6A	8	8	9	8,3
B	7	10	8	8,3
C	10	7	9	8,7
	RATA-RATA			8,43
7A	7	6	7	6,7
B	6	6	8	6,7
C	6	7	7	6,7
	RATA-RATA			6,70
8A	7	9	6	7,3
B	7	10	8	8,3
C	5	8	10	7,7
	RATA-RATA			7,77
9A	8	6	6	6,7
B	6	8	7	7
C	6	6	7	6,3
	RATA-RATA			6,67
10A	5	7	6	6
B	7	6	7	6,7
C	6	8	6	6,7
	RATA-RATA			6,47

Keterangan:

A, B, dan C adalah Jenis Sayatan

Mengetahui,

Laboran

Sri Wahyuningsih, AM.d.

B.2 Tabel Hasil Penelitian Kelompok Perlakuan

SAMPEL	LAPANG PANDANG			RATA-RATA
	I	II	III	
1A	9	9	5	7,7
B	7	5	5	5,7
C	9	5	6	6,7
	RATA-RATA			6,70
2A	4	6	8	6
B	6	12	10	9,3
C	13	8	5	8,7
	RATA-RATA			8,00
3A	5	7	5	5,7
B	5	4	6	5
C	4	5	7	5,3
	RATA-RATA			5,30
4A	4	7	5	5,3
B	6	4	5	5
C	7	4	5	5,3
	RATA-RATA			5,20
5A	8	7	4	6,3
B	7	5	4	5,3
C	6	5	6	5,7
	RATA-RATA			5,77

Keterangan:

A, B, dan C adalah Jenis Sayatan

Mengetahui,

Laboran

Sri Wahyuningsih, AM.d.

SAMPSEL	LAPANG PANDANG			RATA-RATA
	I	II	III	
6A	5	4	9	6
B	4	3	5	4
C	6	4	4	4,7
	RATA-RATA			4,90
7A	5	4	5	4,7
B	4	4	5	4,3
C	6	3	5	4,7
	RATA-RATA			4,57
8A	5	5	4	4,7
B	8	6	4	6
C	4	4	6	4,7
	RATA-RATA			5,13
9A	7	6	4	5,7
B	5	8	4	5,7
C	4	5	5	4,7
	RATA-RATA			5,37
10A	6	8	4	6
B	5	6	6	5,7
C	4	7	4	5
	RATA-RATA			5,57

Keterangan:

A, B, dan C adalah Jenis Sayatan

Mengetahui,

Laboran

Sri Wahyuningsih, AM.d.

B.3 Tabel Perbandingan Rata-Rata Jumlah Limfosit Antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Sampel	Kontrol	Perlakuan
1	8,00	6,70
2	7,43	8,00
3	8,53	5,30
4	8,47	5,20
5	8,90	5,77
6	8,43	4,90
7	6,70	4,57
8	7,77	5,13
9	6,67	5,37
10	6,47	5,57
Rata-rata	7,74	5,65
Standar Deviasi	0,88	1,00

LAMPIRAN C

Tabel Uji Analisis Data

C.1 Means

Report

Jumlah Limfosit

Kelompok	Mean	N	Std. Deviation
Kontrol	7.7370	10	.88082
Perlakuan	5.6510	10	1.00269
Total	6.6940	20	1.41026

C.2 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah limfosit
N		20
Normal Parameters ^a	Mean	6.6940
	Std. Deviation	1.41026
Most Extreme	Absolute	.144
Differences	Positive	.144
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.643
Asymp. Sig. (2-tailed)		.802

C.3 Uji Homogenitas

Levene's Test		
Levene's Test for Equality of Variances		
	F	Sig.
Equal variances assumed	.016	.899

C.4 Uji T

T-Test				
t-test for Equality of Means				
T	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
4.943	18	.000	2.08600	.42205

LAMPIRAN D**Alat dan Bahan Penelitian**

1. *Electrical Foot shock*



2. *Gunting Bedah dan
Blade Scalpel*



3. *Handscoon dan
Masker*



4. *Filling kabinet*



5. Mikroskop binokuler



6. Alat pengering preparat (*Slide*)



7. Mikrotom putar



8. *Automatic staining*



9. *Waterbath*



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% | |