



**PENGARUH STRESOR RASA SAKIT TERHADAP  
JUMLAH LEUKOSIT DARAH TEPI TIKUS  
YANG DIPAPAR *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Asal :	Hadiah Pembelian	Klass
Terima Tgl :	08 FEB 2006	616.8527
No. Induk :		WAR
Pengkatalog :		G.P

Oleh :

**HINDUN MARDIYANA**  
NIM 011610101114

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2005**

**PERSEMBAHAN**

Allah SWT yang maha pengasih lagi maha penyayang,  
kupanjatkan syukur atas anugerah, hidayah dan inayahMu

Ayahanda H.M Rosyidi dan Ibunda Hj. Rosyidah  
yang selalu menaburkan kasih sayang dengan cinta dan do'a tanpa batas abadi tuk  
meraih asa.....

Kakakku Chusnul 'Asfi Khotimah dan M. Nurdin Afandi  
yang selalu memberi seikat rasa sayang dan untaian mutiara do'a tuk mencapai masa  
depanku

Seseorang dari masa depanku 'Handy Cahyono Rahardjo, ST ', yang senantiasa sabar  
menunggu dan menemani hari-hariku....

Almamater yang kubanggakan

**MOTTO**

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

*(Terjemahan Surat Al-Mujadalah Ayat 11)*

Sebodoh - bodohnya manusia adalah manusia yang tidak mengetahui untuk apa, akan kemana dan milik siapa dirinya.

*(A'a Gym dalam manajemen Qolbu, 2001)*

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hindun Mardiyana

NIM : 011610101114

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Tikus Yang Dipapar *Staphylococcus aureus*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 21 Desember 2005

Yang menyatakan,

Hindun Mardiyana

011610101114

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari : Rabo

Tanggal : 21 Desember 2005

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

**Tim Penguji**

Ketua



drg. Erna Sulistyani, M.Kes

NIP. 132 148 478

Anggota



drg. Atik Kurniawati, M.Kes

NIP. 132 206 024

Anggota



drg. Sri Hernawati, M. Kes

NIP. 132 304 774

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember



drg. Zahreni Hamzah, M.S

NIP. 131 558 576

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah Rabb semesta alam, Sholawat dan salam semoga tercurah keharibaan junjungan nabi Muhammad Rasulullah, keluarga dan para sahabat. *Amma ba'du*.

Hanya atas ijin dan pertolongan Allah, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Tikus Yang Dipapar *Staphylococcus aureus*”**. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. drg. Zahreni Hamzah, M.S, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang berkenan memberikan kesempatan hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
2. drg. Erna Sulistyani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Atik Kurniawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang dengan sabar membimbing dan memberikan petunjuk dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. drg. Sri Hernawati M.Kes selaku sekretaris yang juga telah memberikan bimbingan hingga selesainya penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Semua keluarga di Banyuwangi, Jember, Jakarta dan Madura, ( Om dan Tante yatik, mbah kakung dan mbah putriku, calon ibu mertuaku hj. Lestari, mas midzin dan keluarga) terima kasih atas segala bantuan, dukungan, dan perhatiannya selama ini.
5. Adikku (Wahid dan Lia) dan keponakanku ( Sheila N.Z dan Raihan F) yang telah mewarnai kehidupanku dengan persaudaraan yang indah.
6. Sahabat-sahabatku Herina ‘caci’, Khusnul ‘nu2l’, Lilis, Ismi, Myrta, Sofa SE, *thanks for being my spirit and thanks for being my best friend everytime and everywhere.*

7. Teman sepenelitianku Maria, Andy W dan Risa terima kasih atas kerja samanya, chayó !
8. Ewik alias Dwi, thanks komputernya ya? Belajar yg rajin biar cepat jadi dokter
9. Mas Agus, Pak Pin, Mbak Indri dan Kru Rental pojok atas segala bantuan serta fasilitasnya yang diberikan.
10. Teman - teman angkatan 2001, salam kompak selalu.
11. Semua pihak yang sudah turut mendukung dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini yang tidak bisa disebutkan satu-persatu kiranya Allah membalas kebaikan kalian.

Penulis menyadari kelemahannya sebagai manusia dan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis selalu membuka diri untuk menerima kritik dan saran. Akhir kata semoga penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu kedokteran gigi pada khususnya dan masyarakat pada umumnya, Amin.

Jember, Desember 2005

Penulis



**. RINGKASAN**

a. Judul dan Nama Peneliti

- 1) Judul : PENGARUH STRESOR RASA SAKIT TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT DARAH TEPI TIKUS YANG DIPAPAR *Staphylococcus aureus*.
- 2) Nama Peneliti : Hindun Mardiyana
- 3) Nim Peneliti : 011610101114
- 4) Tahun Penulisan : 2005
- Jumlah Halaman : 40

b. Isi Ringkasan

Stres yang ditimbulkan oleh stresor baik fisik maupun psikis sering dijumpai di masyarakat dan merupakan suatu masalah yang dapat menimbulkan dampak atau perubahan pada seluruh organ tubuh khususnya pada sistem imunitas tubuh yang terdiri dari leukosit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh stresor rasa sakit berupa renjatan listrik terhadap jumlah leukosit darah tepi tikus yang dipapar *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi ilmiah dan sebagai bahan pertimbangan untuk menangani pasien dalam kondisi stres khususnya pada bidang kedokteran gigi.

Penelitian ini menggunakan metode *eksperimental laboratories*. Sampel ditentukan 8 ekor tikus wistar jantan perkelompok yang dibagi menjadi 3 kelompok yang diadaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu di kandang perlakuan. Kelompok A adalah kelompok kontrol, pada kelompok perlakuan 1 (B) tikus dipapar bakteri *S. aureus* sebanyak 0,9 cc/ 100 gr BB tikus secara intra peritoneal pada hari ke 6,7 dan 8 sedangkan kelompok perlakuan 2 (C) adalah tikus yang diberi stresor renjatan listrik mulai hari ke-1 dan dipapar *S. aureus* pada hari ke 6,7 dan 8. Pada hari ke-8 tikus korbakan dan dilakukan pengambilan darah intra kardial 30-60 menit setelah perlakuan.



Data penelitian di analisis dengan uji *one way anova* untuk mengetahui perbedaan ketiga kelompok dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* untuk mengetahui kemaknaan statistik dari masing-masing kelompok. Hasil dari penelitian ini diperoleh bahwa stresor rasa sakit berupa renjatan listrik terbukti berpengaruh dengan adanya peningkatan jumlah leukosit darah tepi tikus. Jumlah leukosit pada kelompok perlakuan 2 ( C ) lebih besar daripada kelompok perlakuan 1 (B) dan kelompok kontrol. Hal ini diperkuat dengan hasil uji *one way anova* dan uji *Tukey HSD* dengan signifikansi  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) yang berarti terdapat peningkatan.

Stres menyebabkan supresi sistem imun dimana stres yang diakibatkan stresor renjatan listrik dihantar melalui hipotalamus, CRF disekresikan sehingga menyebabkan sekresi ACTH yang juga meningkatkan sekresi kortisol. Akibatnya leukosit di MGP menurun dan aliran ke CGP meningkat sehingga leukosit darah tepi meningkat. Menurunnya MGP menyebabkan penderita lebih rentan terhadap infeksi karena MGP adalah leukosit fungsional yang melawan mikroorganisme yang masuk dari luar. Penelitian ini membuktikan bahwa stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dapat menyebabkan peningkatan jumlah leukosit darah tepi tikus yang dipapar *S. aureus*.

- c. Identitas Kelembagaan  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Stres .....	5
2.2 Leukosit .....	9
2.3 Jumlah Leukosit Darah Tepi.....	15
2.4 <i>Staphylococcus</i> .....	16
2.5 Sel Darah Putih Tikus.....	19
2.6 Hipotesa.....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>21</b>
3.1 Jenis Penelitian, Tempat Dan Waktu Penelitian.....	21
3.2 Identifikasi Variabel Penelitian .....	21

3.3 Definisi Operasional .....	22
3.4 Populasi Dan Sampel .....	22
3.5 Alat Dan Bahan.....	24
3.6 Prosedur Penelitian.....	25
3.7 Analisa Data.....	27
3.8 Skema Penelitian .....	28
<b>BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA .....</b>	<b>29</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	29
4.2 Analisa Data.....	30
<b>BAB 5. PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>36</b>
6.1 Kesimpulan .....	36
6.2 Saran .....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>41</b>

**DAFTAR TABEL**

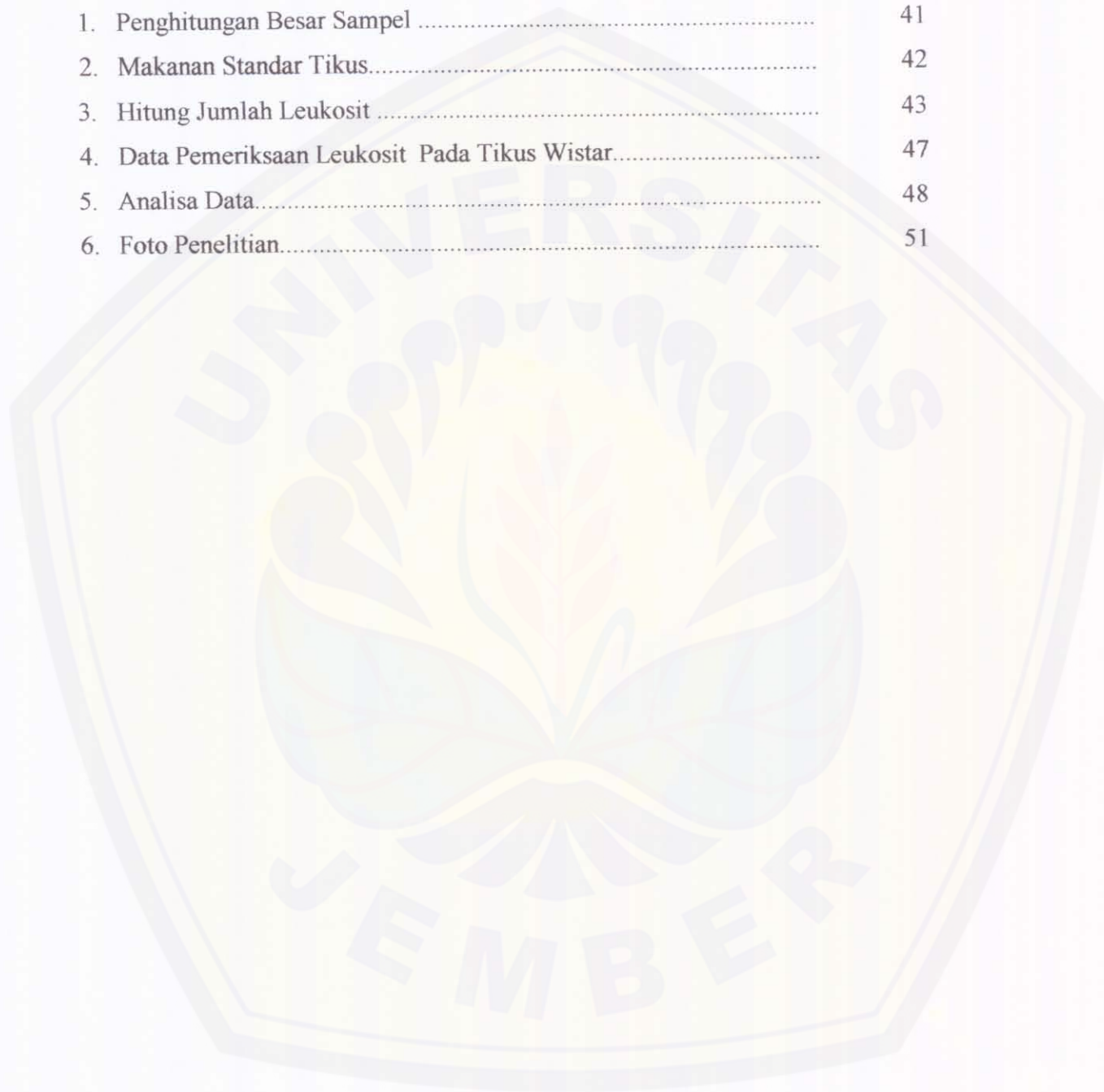
	Halaman
1. Hasil penghitungan jumlah leukosit darah tepi pada sampel kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2.....	29
2. Hasil uji normalitas Kolmogorov-smirnov pada penghitungan leukosit darah tepi kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2.....	30
3. Hasil uji homogenitas pada pemeriksaan leukosit darah tepi.....	31
4. Hasil uji anova pada penghitungan jumlah leukosit darah tepi.....	32
5. Hasil uji Tukey HSD pada penghitungan leukosit darah tepi.....	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Bagan 1. Jalur Stresor Renjatan Listrik.....	8
Bagan 2. Skema Penelitian.....	28
Gambar 1. Deret Neutrofil.....	10
Gambar 2. Deret Eosinofil.....	12
Gambar 3. Deret Basofil.....	13
Gambar 4. Deret Limfosit.....	14
Gambar 5. Deret Monosit.....	15
Gambar 6. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
1. Penghitungan Besar Sampel .....	41
2. Makanan Standar Tikus.....	42
3. Hitung Jumlah Leukosit .....	43
4. Data Pemeriksaan Leukosit Pada Tikus Wistar.....	47
5. Analisa Data.....	48
6. Foto Penelitian.....	51



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Stres menjadi epidemi dimana - mana. Perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan yang sangat pesat di segala bidang dapat mempengaruhi pola hidup masyarakat yang dituntut untuk dapat mengikuti kemajuan jaman dan kehidupan yang penuh persaingan khususnya di kota. Untuk memenuhi tuntutan tersebut terjadi peningkatan tekanan psikologis yang pada akhirnya dapat menimbulkan gangguan psikosomatik seperti keadaan stres (Fitri, 2002). Kejadian atau keadaan yang merupakan rangsang yang menimbulkan stres atau ansietas disebut sebagai stresor. Stresor ini tidak hanya bersifat fisik tetapi juga psikis, contoh dari stresor fisik yaitu stresor rasa sakit (Lubis, 1993 ; Soenarjo, 1997). Kalau tubuh dan jiwa tak mampu menahan beban stres maka stres akan berubah menjadi ancaman yang dapat berupa gangguan respon imun (Dewanti, 2003 ; Sulistyani, 2003). Sistem imun yang terganggu menyebabkan perubahan fungsi imun, khususnya pada sistem imun seluler yaitu leukosit yang terdiri dari neutrofil, basofil, eosinofil, limfosit (Roeslan, 1996). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui hubungan stresor dengan timbulnya suatu penyakit, tetapi hubungan antara stresor rasa sakit dengan perubahan jumlah leukosit pada darah tepi masih belum diketahui dengan jelas.

Lebih dari 50% segala masalah kesehatan dipengaruhi oleh stres (Atkinson, 1999). Menurut Goleman dalam Megawangi (2003) stres merupakan salah satu faktor utama resiko penyakit, dimana 33 % dari pasien tersebut mengalami beberapa periode stres di kantor dan 12 % lainnya di rumah. Suatu hasil studi yang didasarkan pada skala perubahan kehidupan menunjukkan adanya hubungan antara sejumlah peristiwa stres dalam kehidupan seseorang dengan kesehatan fisik dan

dalam kehidupannya dalam satu tahun menunjukkan masalah kesehatan di tahun berikutnya (Atkinson, 1999). Beberapa penelitian juga telah membuktikan bahwa stres dapat menyebabkan penekanan sistem imunitas tubuh. Pada penelitian Sumintarti dalam Asnar (2001) menyatakan bahwa pemberian stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dapat meningkatkan kortisol dan menurunkan jumlah leukosit pada darah tepi tikus. Dari kesemuanya itu stres menyumbang lebih dari seperlima penyebab penyakit di dunia sehingga diperlukan penanganan khusus untuk menangani pasien dengan kondisi stres.

Dalam keadaan normal tubuh kita selalu berhubungan dengan bakteri-bakteri yang dapat menimbulkan penyakit. Namun tubuh kita mempunyai sistem khusus yang dapat memberantas bermacam-macam bahan infeksius dan toksik. Sistem ini disebut sistem imunitas yang terdiri atas leukosit (sel-sel darah putih) yang akan berkumpul pada daerah kerusakan untuk melawan mikroorganisme yang masuk serta menetralkan substansi lainnya (Guyton, 1990 ; Liez, 1997). Sulit sekali menghubungkan stres secara jelas sebagai agen penyebab di dalam penyakit, tetapi stres sebagai faktor psikososial sangat berkaitan erat dengan sistem imunitas tubuh (Putra, 1993 ; WHO dalam Atkinson, 1997). Dan walaupun stresornya berbeda-beda keadaan stres selalu ditandai dengan sekresi glukokortikoid (Sulistiyani, 2003).

Menurut Medicophysiological Approach (MA) stres merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam sehingga stres merupakan variable tergantung (Sulistiyani, 2003). Stresor rasa sakit yang ditimbulkan oleh renjatan listrik dapat menimbulkan stres. Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin meneliti apakah ada pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah leukosit darah tepi tikus *wistar* yang dipapar *Staphylococcus aureus*. Karena leukosit merupakan sistem pertahanan utama tubuh untuk melawan infeksi, terutama yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* sebagai jenis bakteri kokus yang paling patogenik dan sering menyerang tubuh manusia (Bryan, 1968 ; Underwood, 1994). Sedangkan hewan coba yang digunakan



yaitu tikus *wistar* galur murni karena tikus memiliki alat pencernaan dan kebutuhan nutrisi yang hampir sama dengan manusia (Baker, 1980). Tikus ini diberi stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dengan alat yang disebut “*Electrical Foot Shock*” karena intensitas dapat terukur dengan tepat, penjalaran arus listrik dari tapak kaki keseluruhan tubuh termasuk otak dan pemulihan setelah renjatan listrik tidak ada efek ikutan (Asnar, 2001). Metode eksperimental laboratories dipilih karena diharapkan baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmojo, 2002).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan permasalahan apakah ada perbedaan antara jumlah leukosit darah tepi tikus putih *wistar* jantan yang dipapar *Staphylococcus aureus* dan diberi stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dengan yang tidak diberi stressor rasa sakit.

## 1.3 Tujuan

### 1.3.1 Tujuan Umum

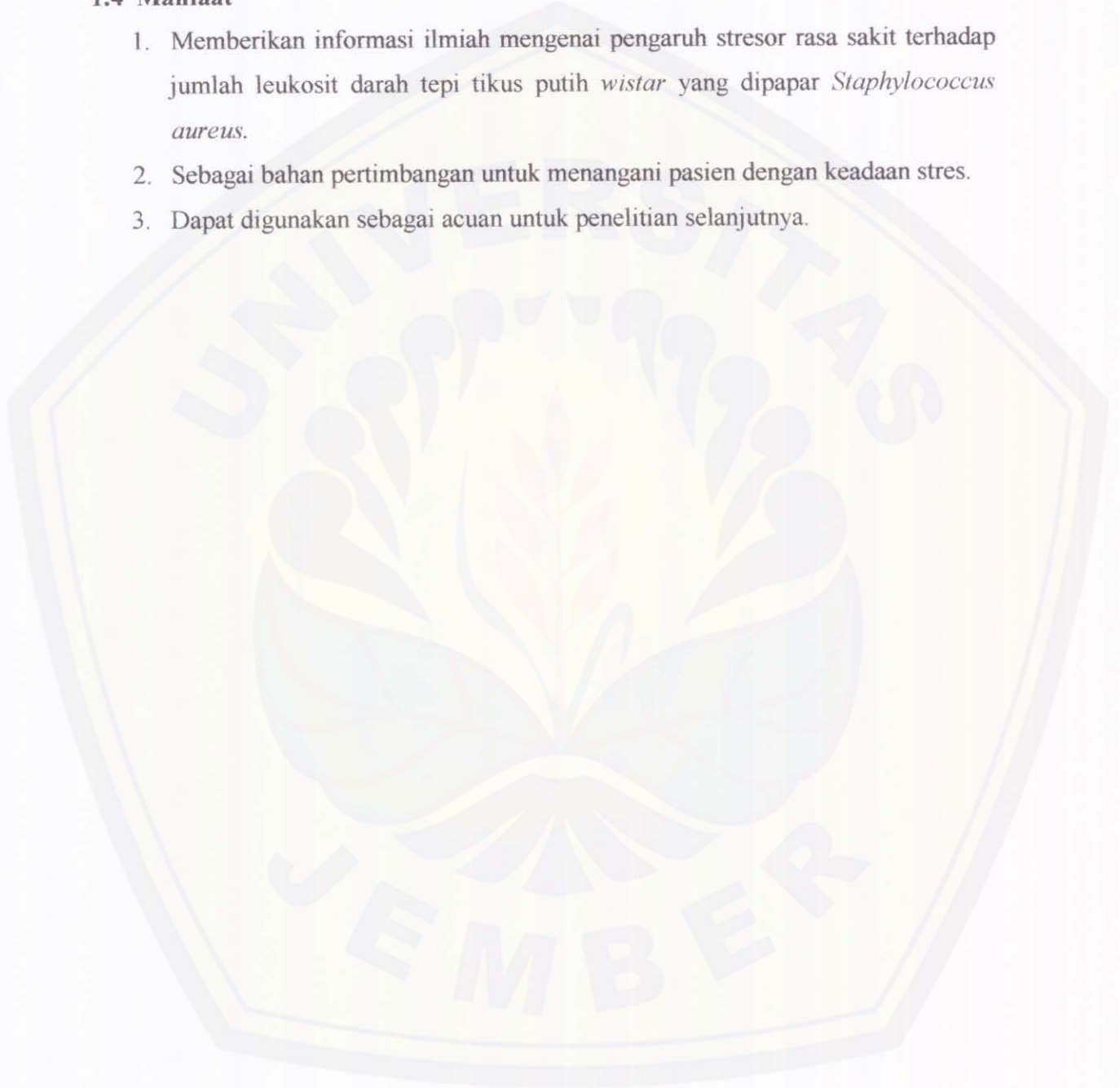
Mengetahui pengaruh stresor rasa sakit berupa renjatan listrik terhadap jumlah leukosit darah tepi tikus *wistar* jantan yang dipapar *Staphylococcus aureus*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan perbedaan antara jumlah leukosit darah tepi tikus yang tidak dipapar *Staphylococcus aureus* dengan darah tepi yang dipapar *Staphylococcus aureus*.
2. Membuktikan perbedaan antara jumlah leukosit darah tepi tikus yang hanya dipapar *Staphylococcus aureus* dengan darah tepi tikus yang diberi stresor rasa sakit dan dipapar *Staphylococcus aureus*.

#### 1.4 Manfaat

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh stresor rasa sakit terhadap jumlah leukosit darah tepi tikus putih *wistar* yang dipapar *Staphylococcus aureus*.
2. Sebagai bahan pertimbangan untuk menangani pasien dengan keadaan stres.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.



## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Stres**

#### **2.1.1 Definisi Stres**

Stres merupakan istilah yang digunakan secara luas untuk menggambarkan respon emosional dan biologik terhadap situasi yang mengancam (Putra, 1993). Menurut Dorland (1996) stres merupakan penjumlahan reaksi-reaksi biologis terhadap berbagai stimulus yang merugikan fisik, mental, atau emosional, internal atau eksternal, yang cenderung mengganggu homeostasis organisme tersebut. Seandainya reaksi-reaksi kompensasinya tidak adekuat atau tidak tepat stres dapat menimbulkan gangguan. Menurut pendekatan engineering, istilah stres digunakan untuk menamakan kondisi lingkungan yang merusak yang menyebabkan individu yang hidup dilingkungan tersebut sakit. Sedang menurut pendekatan psikologis istilah stres digunakan untuk menamakan kondisi psikologis yang terancam sebagai akibat keterbatasan kemampuan untuk memenuhi tuntutan (Putra, 2002).

Stres dapat timbul oleh karena adanya bermacam-macam perbedaan situasi atau emosi yang dapat timbul antara lain karena usaha atau kerja yang terlalu keras, sakit, konsentrasi yang berlebihan, kegagalan dan lain-lain (Selye, 1982). Stres sulit untuk diberi batasan atau diukur karena peristiwa / stresor yang menimbulkan stres pada seseorang belum tentu menimbulkan stres pada orang lain (Semple, 1991).

#### **2.1.2 Mekanisme Stres**

Menurut Goleman dalam Megawangi (2003) dalam keadaan stres, kelenjar-kelenjar kita akan memproduksi adrenalin dan kortisol, yang dapat meningkatkan tekanan darah, mempercepat pernafasan dan detak jantung, dan melepaskan kadar

gula dan lemak di dalam tubuh. Sedangkan menurut Friedman dalam Kompas (2000) ada tiga perubahan yang terjadi di otak manusia dalam kondisi stres yaitu :

1. **Pertama**, perubahan utama yang terjadi pada *locus ceruleus* yaitu struktur di otak yang mengatur dua jenis hormon *katekolamin*. Hormon *katekolamin* sendiri berfungsi memobilisasi tubuh menghadapi keadaan darurat. *Locus ceruleus* menjadi hiperaktif dengan mengeluarkan sangat banyak cairan kimia otak, bahkan dalam situasi dimana hanya ada sedikit atau tak ada ancaman sama sekali.
2. **Kedua**, meningkatnya pengeluaran *Corticotropin Releasing Factor* (CRF) yang merupakan salah satu hormon utama yang memobilisasi tubuh dalam keadaan darurat. Hormon ini diatur oleh sirkuit yang berhubungan dengan *hipotalamus* yaitu struktur di pusat emosional otak dan kelenjar pituitary yang terletak di bawah otak. Hormon ini keluar secara berlebihan untuk menyiagakan tubuh dalam keadaan darurat, situasi yang sebenarnya tak ada dalam kenyataan.
3. **Ketiga**, sistem opioid otak yang berfungsi memadamkan rasa sakit menjadi hiperaktif. Kondisi ini menyebabkan munculnya mati secara emosional dan ketidakmampuan merasakan perasaan halus yaitu suatu gejala yang sering berdampingan dengan stres post traumatis. Ketidaknormalan pada ketiga sistem otak ini ditemukan pada penderita stres.

Menurut Selye dalam Atkinson (1997) ada 3 fase yang terjadi dalam reaksi stres yang biasa disebut General Adaptation Syndrome (GAS) atau Sindrom Adaptasi Umum yaitu :

1. **Alarm stage (reaksi khawatir)**, dimana hipotalamus di otak mengisyaratkan kepada kelenjar adrenal untuk melepaskan adrenalin ke dalam aliran darah akibatnya denyut jantung meningkat dan pernapasan menjadi dangkal, tekanan darah naik dan kapiler kulit serta visera menyempit. Hormon-hormon lain juga dilepaskan terutama ACTH (*Adrenocorticotrophic Hormone*) yang mengaktifkan kelenjar adrenal. Menurut YB Dalono (2002) kelenjar adrenal ini akan melepas kortisol yang dihambat oleh katekolamin.

2. **Adaptation stage**, dalam tahap kedua ini respon stres mulai menghilang, kegiatan *adrenocortical* ditingkatkan jika tubuh tetap dalam keadaan stres untuk waktu yang terlalu lama.
3. **Exhaustion stage (reaksi kelelahan)**, tubuh tetap dalam tahap perlawanan tetapi jika tetap berada dibawah tekanan gejala-gejala baru mulai muncul. Akibatnya tubuh semakin rentan terhadap penyakit dan disfungsi organik dari banyak jenis, penyakit serta kondisi yang kita hubungkan dengan stres mulai memperlihatkan diri.

### 2.1.3 Stresor Renjatan Listrik Dan Sistem Imun

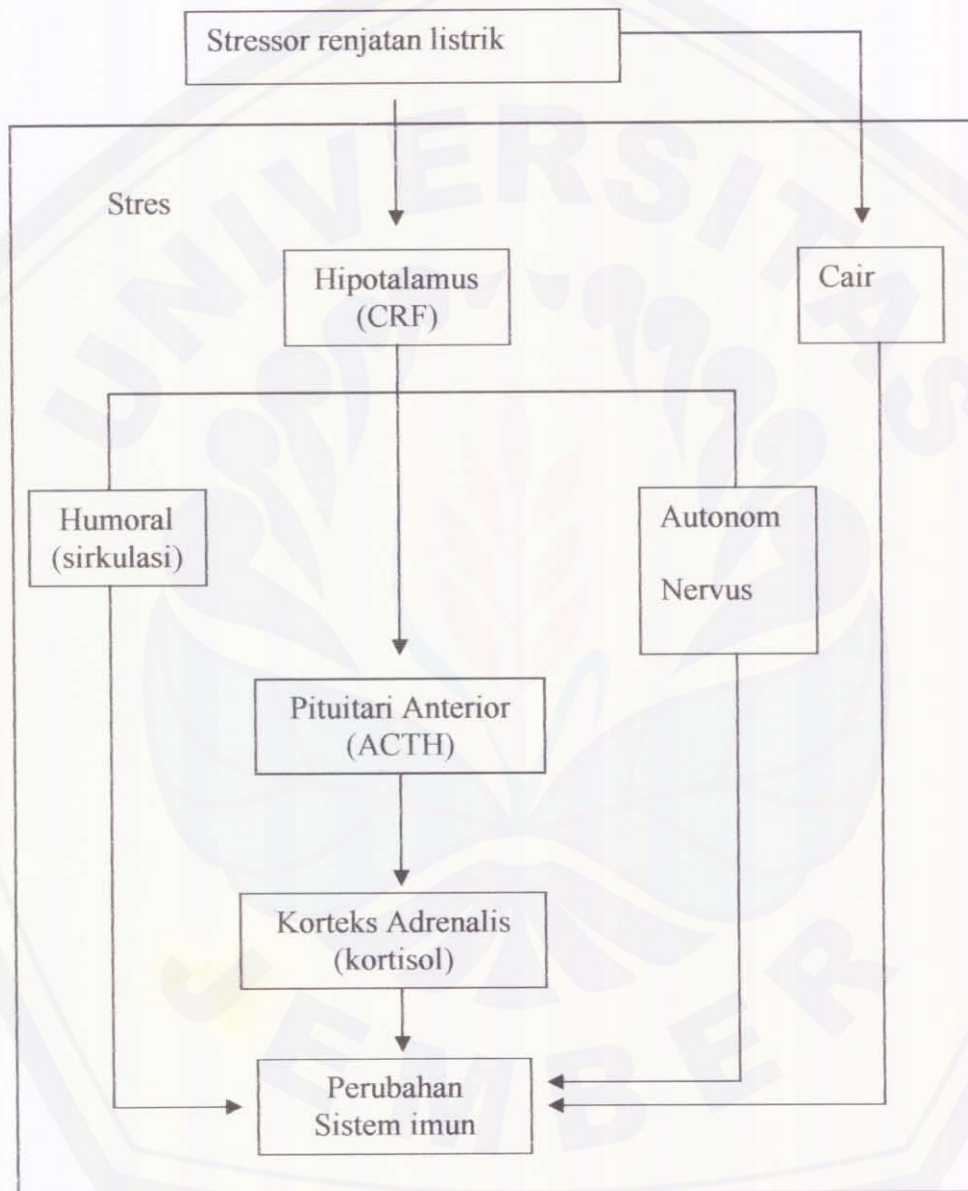
Renjatan listrik atau syok listrik adalah suatu nyeri pada saraf sensori yang diakibatkan aliran listrik yang mengalir secara tiba-tiba melalui tubuh. Bahaya renjatan listrik sangat besar, tubuh akan mengalami *ventricular fibrillation*, kemudian diikuti dengan kematian oleh karena itu perlu diketahui bahwa perubahan-perubahan yang timbul akibat renjatan listrik sebagai metode pengamatan sehingga stres dapat dihindari (Gabriel, 1996).

Faktor stres menjadikan suatu penyakit bekerja melalui proses imunologik (Suryadhana, 1997). Stresor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respons imun yaitu melalui aksis otak – pituitary - adrenal. Individu yang mendapat stresor menahun akan mengalami penurunan fungsi respons imun, sehingga mengakibatkan individu tersebut lebih mudah terinfeksi atau timbul kerusakan akibat reaksi imunopatologi (Putra, 1993). Sedangkan menurut Atkinson (1999) stres yang berlangsung melalui system urat saraf pusat untuk mengubah keseimbangan hormon dapat juga merusak respon daya tahan tubuh seseorang dan mengurangi kemampuan melawan bakteri dan virus yang menyerang.

Penelitian Sumintarti (1997) menyatakan bahwa pemberian stres listrik dengan "*electric foot shock*" menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah, antara lain granulosis, limfosit T,

limfosit B, komplemen. Syok ini akan semakin serius apabila arus yang melewati tubuh semakin besar (Atkinson, 1999).

Secara umum uraian di atas dapat dibagangkan sebagai berikut :



**Bagan 1. Jalur stresor renjatan listrik**

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

## 2.2 Leukosit

Leukosit berasal dari kata *leuco* = putih dan *cyte* = sel, leukosit disebut juga White Blood Cells (WBC) atau sel darah putih karena tidak mempunyai pigmen warna seperti hemoglobin (Rhoades, 1996). Leukosit darah terdiri dari suatu kumpulan heterogen sel-sel berinti yang satu sama lain berbeda morfologi dan fungsinya (Sodeman, 1991).

Leukosit diklasifikasikan menjadi dua kategori yaitu granular dan agranular (Rhoades, 1996). Menurut Leeson (1995) leukosit agranular mempunyai sitoplasma yang tampak homogen, intinya berbentuk bulat atau ginjal. Leukosit ini memiliki granula spesifik dalam sitoplasmanya dan mempunyai inti yang memperlihatkan banyak variasi dalam bentuknya. Terdapat dua jenis leukosit agranular yaitu limfosit dan monosit. Pada granular terdapat tiga jenis leukosit granular : neutrofil, basofil, dan asidofil (atau eosinofil) yang dapat dibedakan oleh afinitas granula terhadap zat warna netral, basa dan asam.

Sistem ini sebagian dibentuk di dalam sumsum tulang (granulosit dan monosit dan sedikit limfosit) dan sebagian lagi di dalam jaringan limfe (limfosit dan sel-sel plasma). Ada enam macam sel darah putih yang secara normal di temukan dalam darah. Keenam sel tersebut adalah neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit dan kadang-kadang sel plasma (Guyton, 1995).

Menurut Guyton (1995), orang dewasa mempunyai kira-kira 7000 sel darah putih permililiter kubik darah. Persentase normal berbagai jenis sel darah putih kira-kira sebagai berikut :

Neutrofil <i>polimorfonuklear</i>	62,0%
Eosinofil <i>polimorfonuklear</i>	2,3%
Basofil <i>polimorfonuklear</i>	0,4%
Monosit	5,3%
Limfosit	30,0%

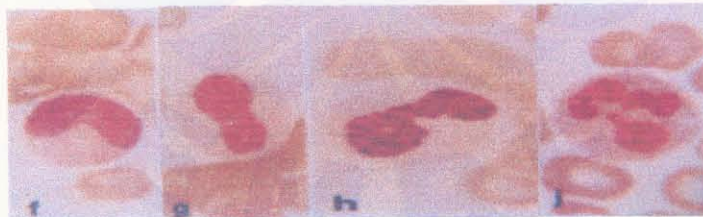
Sedangkan menurut (Hoffbrand, 1996) nilai normal dari sel darah putih total adalah  $4,0 - 11,0 \times 10^9 / l$  darah manusia dengan rincian sebagai berikut :

Neutrofil	$2,5 - 7,5 \times 10^9 / l$
Limfosit	$1,5 - 3,5 \times 10^9 / l$
Monosit	$0,2 - 0,8 \times 10^9 / l$
Eosinofil	$0,04 - 0,44 \times 10^9 / l$
Basofil	$0,01 - 0,1 \times 10^9 / l$

Leukosit merupakan unit yang mobil/aktif dari sistem pertahanan tubuh. Manfaat sesungguhnya dari sel darah putih ialah bahwa kebanyakan ditranspor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius (Guyton, 1995).

### 2.2.1 Neutrofil

Neutrofil termasuk leukosit polimorfonuklear yang dalam keadaan segar berdiameter 7 - 9  $\mu\text{m}$  dan dalam hapus darah kering 10 - 12  $\mu\text{m}$ . Dalam darah manusia neutrofil berjumlah paling banyak dan merupakan 65 - 75 % dari jumlah seluruh leukosit. Inti sangat polimorf dan memperlihatkan berbagai bentuk. Inti umumnya terdiri atas 3 - 5 lobus berbentuk lonjong yang tak teratur yang saling dihubungkan oleh benang-benang kromatin yang halus (Leeson, 1995). Neutrofil muda (bentuk batang) memiliki inti tanpa segmen dalam bentuk tapal kuda (Juncqueira, 1998). Sitoplasma yang banyak berwarna merah jambu dan khas mengandung granula (Underwood, 1994).



**Gambar 1. Deret Neutrofil**

Keterangan :

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

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



Neutrofil immature yang dapat dikenali morfologinya yaitu mieloblast dan promielosit. Mieloblast yang normalnya hanya ditemukan didalam sumsum tulang dan merupakan 0,5 hingga 2,0 % dari sel berinti, dan merupakan sel yang berbentuk bundar atau oval berdiameter 10 hingga 20  $\mu\text{m}$  dengan inti bundar atau oval yang menonjol dan sitoplasma sedikit. Sitoplasmanya berwarna biru tanpa granul. Sedangkan promielosit berukuran lebih besar dan memiliki granula azurofilik atau granula primer. Intinya sangat mirip dengan inti mieloblast kecuali kromatin intinya agak lebih menggumpal (Sodeman, 1991).

Neutrofil sangat motil dan fagosit yang aktif (Rhoades, 1996). Neutrofil dan makrofag bergerak melalui jaringan dengan gerak amuboid. Beberapa sel dapat bergerak melalui jaringan dengan kecepatan 40  $\mu$  permenit yaitu neutrofil dapat bergerak paling sedikit tiga kali panjangnya tiap menit (Guyton, 1990).

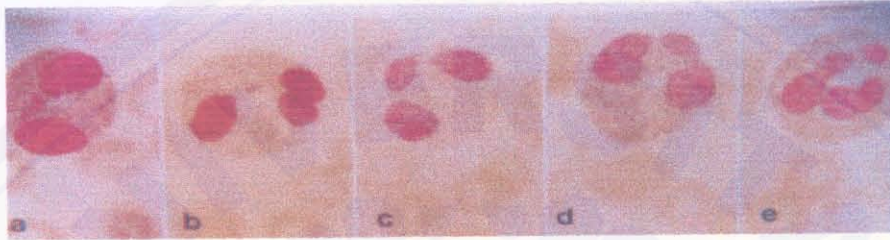
Neutrofil merupakan sel matang yang dapat menyerang dan merusak bakteri dan virus bahkan yang ada di dalam darah yang bersirkulasi (Guyton, 1990). Mereka dapat dengan sendiri merusak beberapa macam mikroba, partikel kecil dan benang fibrin (Rhoades, 1996). Sedangkan menurut Guyton (1995) penyerbuan netrofil ke tempat yang mengalami radang merupakan garis pertahanan kedua. Dalam jam pertama dan jam-jam berikutnya setelah peradangan dimulai, sejumlah besar neutrofil dari darah mulai menginvasi area yang meradang. Jumlah neutrofil kadang meningkat sebanyak empat sampai lima kali lipat, sampai setinggi 15.000 sampai 25.000 per milliliter kubik.

### 2.2.2 Eosinofil

Dalam keadaan normal eosinofil kira-kira merupakan 2-3 % dari seluruh leukosit darah (Guyton, 1995). Dalam angka mutlak, 120 sampai 380 eosinofil per millimeter kubik darah dianggap normal (Cormack, 1994).

Menurut Leeson (1996) leukosit eosinofil atau leukosit asidofil agak lebih besar daripada neutrofil dan dalam keadaan segar mempunyai diameter 9-10  $\mu\text{m}$ . inti biasanya memiliki dua lobus. Ciri-ciri khas sitoplasma adalah mengandung granula

kasar refraktil yang seragam ukurannya. Granula spesifik pada mikrograf elektron tampak mencolok. Ia nampak berpita disebabkan adanya kristal-kristal silindris didalamnya. Retikulum endoplasma, kompleks golgi dan mitokondria eosinofil kurang berkembang (Juncqueira, 1998).



**Gambar 2. Deret Eosinofil**

Keterangan :

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

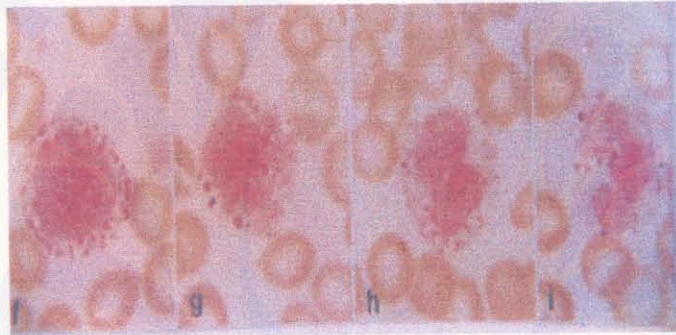
Eosinofil ini penting sebagai perantara dari respons alergi dan dalam pertahanan melawan serangan parasit (Underwood, 1994). Eosinofil adalah fagosit yang lemah dan menunjukkan kemotaksis. Mereka juga mempunyai kecenderungan khusus untuk berkumpul pada tempat reaksi antigen - antibodi dalam jaringan serta mempunyai kesanggupan khusus untuk memfagositosis dan mencernakan kompleks antigen-antibodi kombinasi setelah proses kekebalan melakukan fungsinya (Guyton, 1990). Eosinofil dianggap dapat mendetoksifikasi toksin yang dapat menyebabkan radang yang dilepaskan oleh sel mast dan sel basofil dan mungkin juga oleh jaringan-jaringan yang rusak, jadi mencegah penyebaran proses radang local (Guyton, 1995).

### 2.2.3 Basofil

Sel-sel basofil dalam darah manusia sukar ditemukan karena jumlahnya hanya 0,5-1 % dari jumlah seluruh leukosit (Leeson, 1996). Basofil erat kaitannya dengan sel mast tetapi fungsinya belum dapat ditentukan secara tepat (Underwood, 1994). Basofil yang terdapat di dalam darah sirkulasi itu amat mirip, walaupun tak begitu

identik dengan sel mast yang terletak tepat di luar kapiler di dalam tubuh (Guyton, 1990).

Sel basofil yang berukuran lebih kurang sama dengan leukosit neutrofil, dalam keadaan segar mempunyai diameter 7-9  $\mu\text{m}$  sedangkan pada darah hapus kering 10  $\mu\text{m}$  atau lebih. Batas inti sering tidak teratur dan untuk sebagian terbagi dua lobus. Granula sitoplasma bulat kasar dengan ukuran berbeda-beda. Beberapa granula menutupi inti sehingga cenderung mengaburkan batasnya. Granula bersifat basofil dan metakromatik serta mengandung histamin, heparin dan serotonin (Leeson, 1996). Pergerakannya sangat sedikit dan tidak mengandung lisosom (Rhoades, 1996).



**Gambar 3. Deret basofil**

Keterangan :

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

#### 2.2.4 Limfosit

Limfosit merupakan populasi leukosit darah terbesar kedua. Sebagian besar limfosit berukuran kecil, dengan sitoplasma yang sangat sedikit (Sodeman, 1991). Sebagian kecil limfosit dapat agak besar dengan sitoplasma banyak yang kadang-kadang disebut limfosit yang aktif (Underwood, 1994).

Limfosit kecil yang mendominasi dalam darah memiliki inti sferis, kadang-kadang berlekuk, dengan garis tengah 6-8  $\mu\text{m}$ . kromatinnya padat dan tampak sebagai

gumpalan kasar sehingga inti terlihat gelap pada sajian biasa. Sedangkan pada Limfosit besar memiliki garis tengah sampai 18  $\mu\text{m}$ . perbedaan ini mempunyai arti fungsional karena limfosit yang lebih besar diduga adalah sel yang telah diaktifkan oleh antigen spesifik. Sel ini akan berkembang menjadi limfosit T atau limfosit B (Juncqueira, 1998).



**Gambar 4. Deret Limfosit**

Keterangan :

a-c limfosit : limfosit-limfosit kecil jelas kelihatan pada gambar.

Dalam darah kebanyakan limfosit adalah sel T dengan umur sangat panjang. Sel-sel ini memiliki beberapa fungsi. Limfosit T ini dapat mengatur aktivitas sel T atau sel B lain baik secara positif ( sel T penolong ) dan secara negatif (sel T supresor) (Juncqueira, 1998).

### 2.2.5 Monosit

Monosit merupakan 2 sampai 8 % dari leukosit darah. Jumlah absolutnya berkisar antara 200 sampai 600 monosit per millimeter kubik darah (Cormack, 1994). Monosit merupakan sel darah yang paling besar, intinya berbentuk lonjong atau mirip ginjal tetapi tanpa lobus. Sitoplasma yang cukup banyak terpulas biru pucat dan sering mengandung granula merah jambu, vakuola sering ditemukan (Underwood, 1994). Diameternya 9 sampai 10  $\mu\text{m}$  tetapi pada hapus darah kering menjadi pipih, mencapai diameter 20  $\mu\text{m}$  atau lebih. Inti biasanya terletak eksentris dalam sel, terlihat mempunyai lekukan yang dalam atau berbentuk tapal kuda. Bahan kromatin dalam inti tersusun sebagai jala-jala halus (Leeson, 1995).



**Gambar.5 Deret Monosit**

**Keterangan**

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

Monosit dijumpai dalam darah sebagai prekursor sistem fagosit mononukleus yang baru dibentuk. Monosit masuk ke dalam jaringan dan bertanggung jawab untuk memfagosit dan mencerna bahan asing serta jaringan (Underwood, 1994). Terdapat petunjuk pula bahwa monosit yang beredar memiliki kemampuan memfagositosis bakteri, virus, dan komplek antigen antibody dari aliran darah (Cormack, 1994).

### **2.3 Jumlah Leukosit Darah Tepi**

Darah tepi mengandung leukosit yang jumlahnya berkisar antara 4500-11000 sel/mm<sup>3</sup>. Granulosit matang, limfosit dan monosit merupakan populasi leukosit normal, tetapi dalam darah tepi ditemukan pula beberapa sel dengan inti yang hampir matang. Separuh atau lebih leukosit dalam sirkulasi adalah granulosit yaitu sel yang sitoplasmanya mengandung granula dengan bermacam-macam komposisi kimia dan enzim. Bila terjadi rangsangan untuk meningkatkan jumlah granulosit dalam darah tepi, sel muda granulosit akan muncul dalam darah tepi (Widmann, 1995).

Penurunan leukosit akan tampak pada keadaan myeloid hypoplasia, pemberian obat-obatan seperti Chloramphenicol, benzene, infeksi bakteri, megaloblastik anemia (Henry, 1984). Sedangkan menurut Widmann (1995) Leukosit mengalami peningkatan apabila kelenjar adrenal dirangsang baik secara farmakologis maupun sebagai respon terhadap kebutuhan fisiologis.

Dalam upaya membantu membuat diagnosis, penting untuk mengetahui jumlah leukosit total (hitung leukosit). Prosedur standart untuk memperoleh hitung leukosit total antara lain dengan cara manual dan dengan menggunakan alat hitung sel otomatis (kamar hitung). Cara manual merupakan metode rujukan dan dapat dilakukan di laboratorium sederhana. Salah satu contoh alat hitung otomatis adalah kamar hitung *Improved Neubauer*. Dimana pada kamar hitung terdapat 4 persegi hemositometer di tiap ujung untuk menghitung jumlah leukosit dan 1 persegi di tengah yang masing-masing terdiri dari 16 persegi kecil dengan ukuran 3x3 mm (Henry, 1984). Jumlah total leukosit per milimeter kubik darah dihitung berdasarkan jumlah rata-rata inti leukosit yang terdapat pada satu persegi besar hemositometer (Cormack, 1994).

#### 2.4 *Staphylococcus*

*Staphylococcus* merupakan sebagian besar dari flora normal manusia, tetapi juga termasuk beberapa spesies yang merupakan patogen penting (Hart, 1996). *Staphylococcus* berasal dari perkataan *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan *kokus* yang berarti benih bulat (Staf Pengajar FKUI, 1994). Menurut Jawetz (1995) *Staphylococcus* adalah sel-sel berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1  $\mu$ m dan tersusun dalam kelompok-kelompok tak beraturan. *Staphylococcus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora.

Menurut staf pengajar FKUI (1994), *Staphylococcus* diklasifikasikan sebagai berikut :

Ordo : *Eubacteriales*

Famili : *Micrococciceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus epidermidis*

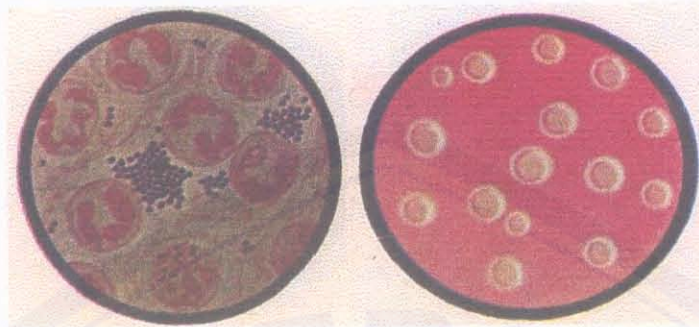
*Staphylococcus saprophyticus*

Pada biakan cair *Staphylococcus* tampak kokus tunggal, berpasangan, berbentuk tetrad dan berbentuk rantai. Kokus muda bersifat gram positif kuat, sedangkan pada biakan yang lebih tua banyak sel menjadi gram negatif. *Staphylococcus* mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteri dalam keadaan aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37 C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C) (Jawetz, 1995). *Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit spektrum luas termasuk penyakit-penyakit systemik, infeksi kutaneus, infeksi oportunistik dan penyakit saluran kencing (Murray, 1998).

#### **2.4.1 *Staphylococcus aureus***

Pada pewarnaan gram menunjukkan kelompok kuman kokus gram positif yang khas (Hart, 1996). Kuman ini berbentuk sferis, sel menggerombol dalam susunan yang tidak teratur, sendirian, berpasangan atau seperti rantai yang pendek, ukuran diameter 0,8-1 µm, gram positif, tidak motil, tidak berspora dan tidak memiliki kapsul (Bryan, 1968).

Pertumbuhan terbaik dan khas ialah pada suasana aerob, kuman ini pun bersifat anerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan ialah 7,4. pada lempeng agar koloninya berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Warna khas ialah kuning keemasan, hanya intensitas warnanya dapat bervariasi (Staf Pengajar FKUI, 1994).



**Gambar 6. *Staphylococcus aureus***

Keterangan :

*S. aureus* gram positif dalam nanah (a), dan koloni *S. aureus* pada medium agar campur darah (b).

*S. aureus* bersifat koagulase positif. *S. aureus* adalah patogen yang penting, menyebabkan infeksi kulit, osteomielitis, septisemia dan pneumonia ( Hart, 1996 ). *S. aureus* memproduksi toksin yang dapat menyebabkan penyakit dengan cara invasi langsung atau dengan merusak jaringan (Murray, 1998). Menurut Bryan (1968) toksin yang dihasilkan *S. aureus* yaitu:

- *Hemolysin*, menyebabkan hemolisis sel darah merah
- *Leucosidin*, dapat merusak leukosit
- *Lethal toxin* (toksin jaringan), dapat menyebabkan kematian hewan jika diinjeksikan secara intravena
- *Dermonecrotic toxin*, menyebabkan nekrosis jika diinjeksikan intradermal pada hewan
- *Enterotoxin*, menyebabkan gastroenteritis akut (keracunan makanan)
- *Fibrinolysin*, menghancurkan benang fibrin pada darah manusia
- *Coagulase*, menyebabkan koagulase sitrat darah.

Mereka (*S. aureus*) adalah kuman gram positif yang jarang menimbulkan gejala klinis (Hart, 1996). Kemampuan patogenik strain *S. aureus* tertentu merupakan efek gabungan factor - faktor ekstraseluler, toksin - toksin, serta sifat invasif strain itu (Jawetz, 1995).



#### 2.4.2 Pengaruh *S. aureus* terhadap Sistem Imun

Keadaan sistem pertahanan tubuh pada individu menentukan kerentanannya terhadap penyakit infeksi. Tubuh terus menerus terpapar bakteri, virus, jamur, dan parasit. Untunglah, badan kita mempunyai sistem khusus untuk melawan berbagai agen toksik dan infeksi. Ia terdiri dari leukosit dan jaringan limfoid. Jaringan – jaringan ini untuk mencegah infeksi mempunyai dua fungsi yaitu menghancurkan agen penyerang dengan proses fagositosis dan membentuk antibodi dan limfosit yang disensitifkan, salah satu atau keduanya akan menghancurkan penyerang (Guyton, 1990).

Contoh bakteri yang sering menyerang manusia adalah *Staphylococcus aureus*. Kuman berkembang biak dan menyebabkan nekrosis jaringan setempat yang selanjutnya disusul oleh serbuan sel radang (leukosit) ( Staf Pengajar FKUI, 1994). *S. aureus* yang memasuki jaringan melepaskan banyak sekali toksin yang mematikan sel-sel. Akibatnya peradangan berlangsung cepat, malah lebih cepat dari penggantian dan penyebaran *S. aureus* itu sendiri. Infeksi *S.aureus* setempat ditandai dengan cepatnya pembentukan dinding pembatas dan mencegah penyebaran ke seluruh tubuh (Guyton, 1997).

Selama infeksi bakteri jumlah sel fagositik yang bersirkulasi akan meningkat. Bakteri yang masuk ke sistem limfatik, paru, sumsum tulang atau aliran darah ditelan oleh berbagai macam sel fagositik antara lain leukosit polimorfonuklear dan monosit fagositik (Jawetz, 2001). Sistem kekebalan membuat antibodi untuk melawan agen - agen yang menyebabkan infeksi seperti bakteri. Antibodi ini kemudian melekat pada membran bakteri dan membuat bakteri itu rentan terhadap fagositosis (Guyton, 1990).

Menurut Leeson (1995) Sebuah sel leukosit yaitu neutrofil dapat memfagositosis 5-20 bakteri sebelum neutrofil itu sendiri menjadi inaktif dan mati. Neutrofil mengandung *lisosim* yang merusak glikosid pada dinding bakteri, mereka juga mengandung *laktoferin* yaitu protein yang bakteriostatik terhadap bakteri.

## 2.5 Sel Darah Putih Tikus

Crescoveff dkk dalam Baker (1980) menemukan bahwa tidak ada perbedaan yang penting pada leukosit untuk perhitungan differential count pada tikus berdasarkan jenis kelaminnya. Rata-rata jumlah leukosit berkisar 9000 leukosit /  $\mu\text{l}$  dengan range berkisar 6000-18.000. Vondruska dkk dalam Baker (1980) melakukan penghitungan jumlah leukosit pada tikus jantan umur 2,5 bulan dengan rata-rata leukosit 10.000 /  $\mu\text{l}$  sedangkan yang betina umur 2,5 bulan leukositnya 14.140 /  $\mu\text{l}$ .

Salah satu sel leukosit yaitu Neutrofil polimorfonuklear pada tikus berdiameter 11-12  $\mu\text{m}$  dengan satu inti yang terdiri dari 2-5 lobus yang berbentuk sosis (biasanya 3 lobus) satu sama lain saling dikaitkan oleh benang-benang halus kromatin dimana nukleusnya tidak begitu tampak jelas. Granula pada sitoplasma berbintik yang khas meskipun tidak sejelas granula manusia. Disebutkan bahwa jumlah rata-rata neutrofil secara normal pada tikus jantan berusia 8-14 minggu adalah antara 15,7 – 19,4 sedangkan jumlah rata-rata limfosit normal pada tikus dengan usia yang sama adalah 75,2 – 81,2 dan monosit antara 2,2 – 2,8 (Baker, 1980).

## 2.6 Hipotesa

1. Terdapat perbedaan antara jumlah leukosit darah tepi tikus putih *wistar* jantan yang dipapar *Staphylococcus aureus* dengan darah tepi tikus yang tidak dipapar *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat perbedaan antara jumlah leukosit darah tepi tikus putih *wistar* jantan yang hanya dipapar *Staphylococcus aureus* dengan darah tepi tikus yang diberi stresor rasa sakit dan dipapar *Staphylococcus aureus*.

### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu penelitian**

##### **3.1.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratories dengan rancangan penelitian *Post Only Control Group Design*.

##### **3.1.2 Tempat Penelitian**

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

##### **3.1.3 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2005.

#### **3.2 Identifikasi Variabel Penelitian**

##### **3.2.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Stresor rasa sakit dan *Staphylococcus aureus*.

##### **3.2.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Jumlah Leukosit.

##### **3.2.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Makanan standar tikus *wistar* (lampiran 2)
- b. Minuman tikus *wistar*
- c. Dosis *Staphylococcus aureus*
- d. Cara paparan *S. aureus*
- e. Lama pemberian *S. aureus*

- f. Dosis pemberian *electrical foot shock*
- g. Cara pemeliharaan
- h. Prosedur penelitian

### **3.3 Definisi Operasional Penelitian**

#### **3.3.1 Stresor Rasa Sakit**

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

#### **3.3.2 Jumlah Leukosit**

Jumlah leukosit adalah jumlah total leukosit permilimeter kubik darah dihitung berdasarkan jumlah rata-rata inti leukosit yang terdapat pada satu persegi besar hemositometer (Cormack, 1992).

#### **3.3.3 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* adalah patogen yang penting dan pada pewarnaan gram menunjukkan kelompokan kuman kokus gram positif yang khas (Hart, 1996).

### **3.4 Populasi dan Sampel**

#### **3.4.1 Populasi**

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

#### **3.4.2 Sampel**

##### **a. Pengambilan Sampel**

Cara pengambilan sampel dengan menggunakan metode *Simple Random Sampling*.

**b. Kriteria Sampel**

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

**c. Besar Sampel**

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

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

keterangan :

n : besar sampel minimal

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

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

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

$\alpha$  : tingkat signifikan (0,05)

P : Prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,95)

$$P = 1 - \beta$$

$\beta$  : 0,20

(Steel dan Torrie, 1995)

Penghitungan besar sampel terdapat pada lampiran 1. Berdasarkan perhitungan rumus besar sampel di atas, maka besar sampel yang digunakan pada penelitian ini telah memenuhi kriteria pengambilan sampel penelitian.

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat Penelitian

- a. Kandang yang terbuat dari ember plastik persegi empat berukuran 41 x 32 x 11 cm dengan tutup dari anyaman kasa.
- b. Alat "*Electrical Foot Shock*".
- c. Tempat makan dan minum untuk tikus.
- d. Timbangan untuk menimbang tikus (Neraca Ohaus, *Germany*).
- e. Gunting bedah.
- f. Sarung tangan.
- g. *Disposable Syringe* (Terumo, Japan)
- h. Mikroskop binokuler (Leica, *USA*)
- i. Kamar hitung *Improved Neubauer*
- j. Pipet pengencer dari Thoma untuk leukosit
- k. Pipet *Pasteur*
- l. Pipet *volumetrik*
- m. Tabung reaksi ukuran 75x10 mm (Pyrex, Japan) dan rak tabung reaksi.
- n. Parafilm
- o. Masker
- p. Handscoon

#### 3.5.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus *wistar*
- b. Makanan standar untuk tikus *wistar* yang beredar di pasaran yaitu jenis konsentrat produksi Feedmill Malindo, Gresik.
- c. *Staphylococcus aureus*
- d. Larutan buffer fosfat (Merck, *Germany*)
- e. Minyak *emersi* (Merck, *Germany*)
- f. Digunakan larutan pengencer adalah larutan *Turk*
- g. EDTA

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Tahap Persiapan

##### a. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di Laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember selama 1 minggu.

- a. Tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak.
- b. Tikus diberi makanan standart dan air minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya).

##### b. Tahap Persiapan Bakteri

Stok bakteri *S. aureus* diambil dari laboratorium FKG UNEJ kemudian dibuat sediaan berupa suspensi dengan cara ditumbuhkan dalam PZ ( $10^{-3}$  dalam 100 ml salin ) dan disimpan selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu  $37^{\circ}$  C, setelah dilihat standart kekeruhannya pada standart spektroni sesuai larutan standart Max Farla untuk bakteri yaitu 0,5 panjang gelombang 560 nm (FKH UNAIR, 2001).

#### 3.6.2 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba

##### a. Pemberian stresor renjatan listrik

Hewan coba tikus dengan berat 200-250 gram sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 8 ekor yaitu :

- a. Kelompok (A) adalah kelompok kontrol,
- b. kelompok perlakuan 1 (B) adalah tikus yang dipapar dengan bakteri *Staphylococcus aureus*,
- c. kelompok perlakuan 2 (C) adalah tikus yang diberi stresor renjatan listrik dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng dari seng di dasar kandang perlakuan dan 30-60 menit kemudian dipapar *S.aureus*.

Tegangan listrik yang digunakan sebesar 25 V dengan frekuensi 60 Hz.

Jumlah pemberian renjatan listrik berpedoman pada penelitian Asnar (2001) :

Hari ke 1: 4 renjatan - 2 sesi

Hari ke 2: 8 renjatan - 2 sesi

Hari ke 3: 10 renjatan - 3 sesi

Hari ke 4: 12 renjatan - 3 sesi

Hari ke 5: 14 renjatan - 4 sesi

Hari ke 6: 16 renjatan - 4 sesi

Hari ke 7: 18 renjatan - 5 sesi

Hari ke 8 : 20 renjatan - 5 sesi

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

Perlakuan selanjutnya, setelah hari ke 8, hewan coba dibunuh dan dilakukan pengambilan darah intrakardial 30 – 60 menit setelah perlakuan.

#### **b. Tahap Pemberian *Staphylococcus aureus***

Pemberian bakteri *S. aureus* pada hewan coba kelompok B dan C dengan dosis 0,9 cc / 100 gr BB tikus secara intraperitoneal ( FKH UNAIR, 1998) pada hari ke 6, 7 dan 8, dimana pada kelompok (C) *S. aureus* diberikan minimal 30-60 menit setelah pemberian stresor rasa sakit. Hal ini karena pada umumnya kadar kortisol darah mencapai puncak 30 – 60 menit setelah stresor (Guyton, 1995).

### **3.6.3 Hitung Jumlah Leukosit Total**

#### **a. Membuat Pengenceran**

Tahap pengenceran diuraikan pada lampiran 3

#### **b. Mengisi kamar hitung**

Mengisi kamar hitung diuraikan pada lampiran 3

#### **c. Menghitung jumlah sel**

Menghitung jumlah sel diuraikan pada lampiran 3



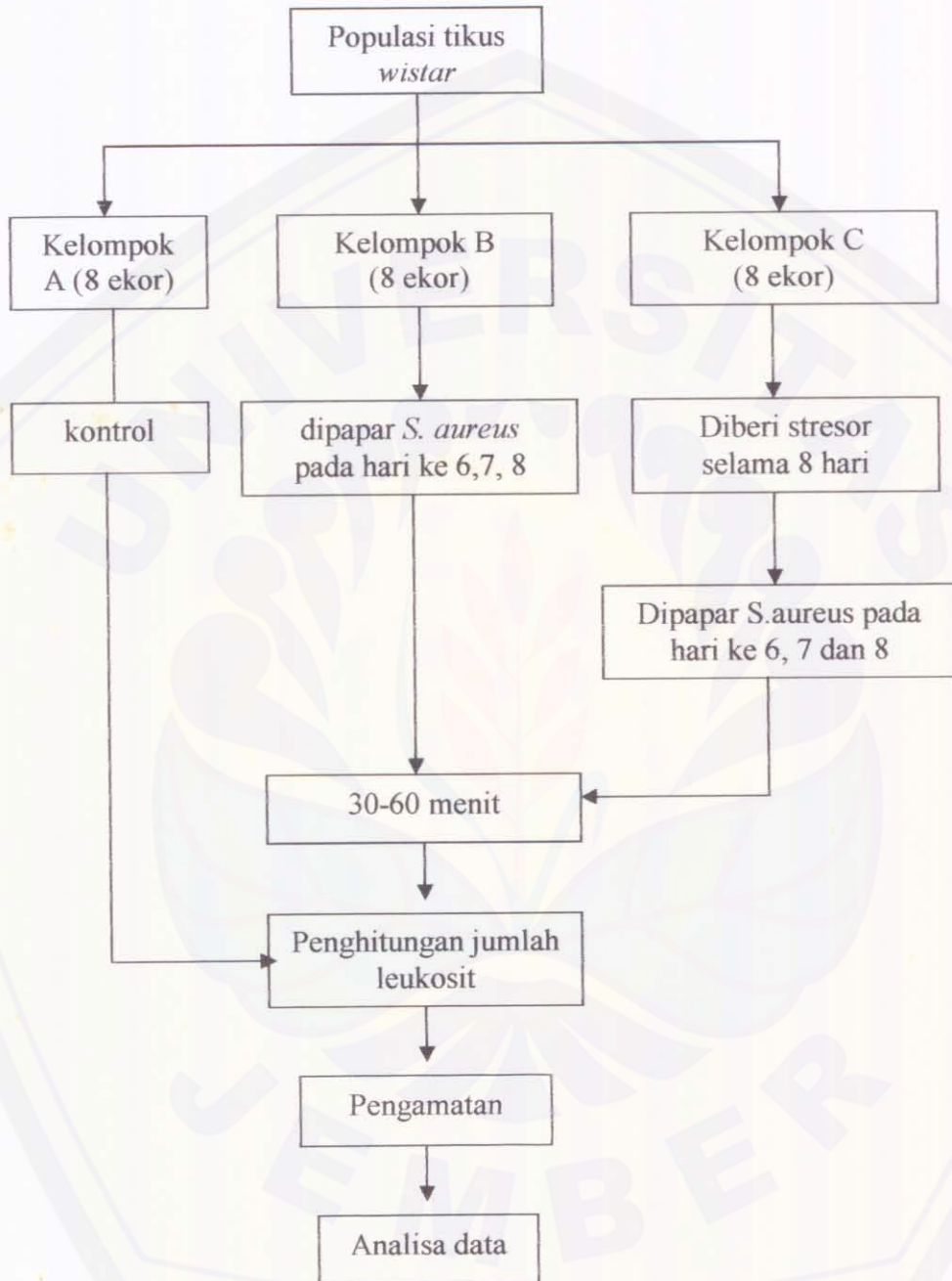
**d. Penghitungan**

Penghitungan jumlah leukosit total diuraikan pada lampiran 3

**3.7 Analisa Data**

Data yang diperoleh di analisa dengan menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One Way Anova* ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui perbedaan jumlah leukosit total antara kelompok kontrol (A), kelompok B yang dipapar *S. aureus* dan kelompok C yang diberi stresor rasa sakit dan dipapar *S. aureus* kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* ( $p < 0,05$ ).

## 3.8 Skema penelitian



## BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA

### 4.1 Hasil

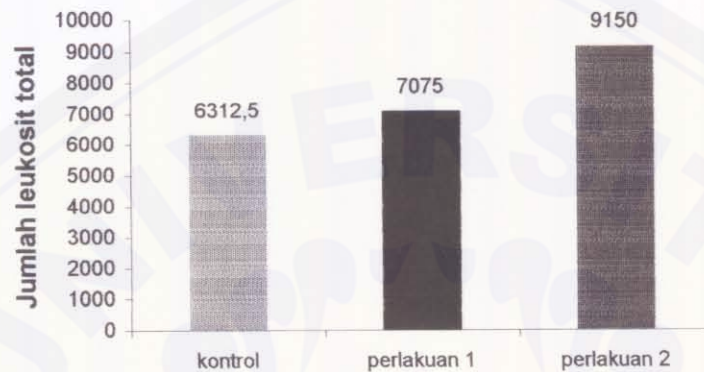
Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Juli 2005 dengan sampel sejumlah 24 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (A), kelompok perlakuan 1 (B) dan kelompok perlakuan 2 (C) yang masing-masing berisi 8 ekor sampel. Ketiga kelompok dikorbankan pada hari ke 8 setelah diadaptasikan di laboratorium biomedik bagian fisiologi FKG Unej dengan perbedaan yaitu pada kelompok B dikorbankan setelah sebelumnya dipapar *S. aureus* pada hari 6,7 dan 8 sedangkan pada kelompok C dikorbankan setelah pemberian stresor rasa sakit selama 8 hari dan dipapar *S. aureus* pada hari ke 6,7 dan 8. Setelah dikorbankan dilakukan pengambilan darah intra kardial untuk penghitungan jumlah leukosit.

Penghitungan jumlah leukosit dilaksanakan di laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember, dimana didapatkan hasil rata-rata untuk kelompok kontrol (A) 6.312,5 / $\mu$ l , kelompok perlakuan 1 (B) 7.075 / $\mu$ l dan kelompok perlakuan 2 (C) sebesar 9.150 / $\mu$ l. Hasil penghitungan leukosit ini dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil penghitungan jumlah leukosit pada sampel kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2.

NO.	Leukosit Total (/ $\mu$ l)		
	Kontrol (A)	Perlakuan 1 (B)	Perlakuan 2 (C)
1	5.600	7.200	7.900
2	6.200	7.900	9.100
3	5.900	5.300	8.900
4	6.400	6.900	11.200
5	5.700	7.600	10.400
6	6.800	6.800	9.800
7	6.400	8.100	6.700

8	7.500	6.800	9.200
Jumlah	50.500	56.600	73.200
Rata-rata	6.312,5	7.075	9.150



**Grafik 1.** Histogram rata-rata jumlah leukosit pada kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2.

#### 4.2 Analisa Data

Hasil rata-rata penghitungan jumlah leukosit antara kelompok kontrol (A), kelompok perlakuan 1 (B) dan kelompok perlakuan 2 (C) kemudian dilakukan uji Kolmogorov-smirnov untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yang dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk menguji berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi-populasi tersebut sama.

**Tabel 2.** Hasil uji normalitas Kolmogorov-smirnov pada penghitungan jumlah leukosit pada kelompok kontrol (A), perlakuan 1 (B) dan perlakuan 2 (C).

Variabel	Mean	df	Sig.
leukosit control	6.312,5	8	0,200
perlakuan 1	7.075	8	0,145
perlakuan 2	9.15	8	0,200

Tabel diatas memperlihatkan bahwa nilai probabilitas jumlah leukosit pada kelompok kontrol (A) sebesar 0,200 ,kelompok perlakuan 1 (B) 0,145 dan kelompok perlakuan 2 (C) 0,200 ( $P > 0,05$ ) yang berarti bahwa data penelitian tersebut terdistribusi normal.

**Tabel 3.** Hasil uji homogenitas pada pemeriksaan leukosit.

Statistic	df1	df2	Sig.
1,408	2	21	0,267

Keterangan df1 : derajat bebas kelompok perlakuan

df2 : standar error

Sig : probabilitas

Berdasar uji statistik homogenitas jumlah leukosit pada perlakuan 24 ekor tikus wistar memiliki nilai probabilitas 0,267 ( $P > 0,05$ ) yang berarti data adalah sama (homogen).

Setelah diketahui data tersebut normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan uji beda untuk beberapa variabel menggunakan uji anova yang dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil uji anova pada peghitungan jumlah leukosit.

leukosit	Df	Sig.
Between groups	2	0,000

Dari hasil uji anova yang dilakukan menunjukkan adanya perbedaan statistik yang bermakna terhadap nilai rata-rata jumlah leukosit pada kelompok kontrol (A), perlakuan 1(B) dan perlakuan 2 (C).

Setelah dilakukan uji anova yang menunjukkan kemaknaan ketiga kelompok tersebut dilakukan uji Tukey HSD untuk mengetahui kemaknaan statistik dari masing-masing kelompok yang dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil uji Tukey HSD pada penghitungan leukosit.

Variabel	Variabel Pembanding	Sig.
Kontrol	Perlakuan 1	0,314
	Perlakuan 2	0,000
Perlakuan 1	Kontrol	0,314
	Perlakuan 2	0,002
Perlakuan 2	Kontrol	0,000
	Perlakuan 1	0,002

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna nilai rata-rata jumlah leukosit pada kelompok kontrol (A), perlakuan 1 (B) dan perlakuan 2 (C) dengan probabilitas  $P < 0,005$ . Dimana jumlah rata-rata leukosit pada kelompok perlakuan 2 (C) adalah tertinggi diikuti kelompok perlakuan 1 (B) dan kelompok kontrol terendah (bisa dilihat pada tabel 1).

## BAB 5. PEMBAHASAN

Masalah psikosomatik yang dalam hal ini adalah stres yang ditimbulkan oleh stresor sering dijumpai di masyarakat dan merupakan suatu masalah yang dapat menimbulkan dampak atau perubahan pada seluruh organ tubuh. Untuk mengungkap perubahan - perubahan pada tubuh akibat stresor dilakukan penelitian jenis eksperimental laboratories karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan terpercaya. Penelitian ini menggunakan bakteri jenis *Staphylococcus aureus* karena merupakan genus yang paling patogenik pada manusia dan sering ditemukan pada kulit dan membran mukosa (Bryan, 1998).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di laboratorium fisiologi FKG Universitas Jember dan laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember didapatkan hasil bahwa stresor rasa sakit berupa kejutan listrik dengan intensitas kejutan yang telah ditentukan, meningkatkan jumlah leukosit darah tepi baik pada tikus kontrol maupun yang terpapar *S. aureus*.

Pada tabel 1 dan 5 bisa dilihat bahwa Jumlah leukosit darah tepi mengalami peningkatan yang signifikan pada kelompok perlakuan 2 (C) dibanding dengan kelompok kontrol dan perlakuan 1 (C) ( $P < 0,05$ ). Perlakuan 1 jumlah leukosit lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hal ini karena pada perlakuan 1 terdapat perangsangan respon imun pada tikus akibat terpapar *S. aureus*. *S. aureus* yang masuk akan melepaskan banyak sekali toksin yang mematikan sel-sel akibatnya peradangan berlangsung sangat cepat malah lebih cepat dari pengandaan dan penyebaran *S.aureus* itu sendiri (Guyton, 1997). *S. aureus* yang masuk akan dihancurkan oleh leukosit yang sebagian besar masanya terdiri atas neutrofil melalui fagositosis (Cormack, 1994). Leukosit sebagai unit pertahanan tubuh menyerang benda asing yang masuk, menghancurkan sel abnormal dan membersihkan debris sel,

sehingga ketika *S. aureus* masuk maka leukosit yang sebagian besar massanya berupa neutrofil akan meningkat (Sherwood, 1996).

Pada perlakuan 2 terdapat peningkatan leukosit yang lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan 1. Hal ini dikarenakan adanya stresor yang menyebabkan pengeluaran glukokortikoid yang berpengaruh terhadap distribusi leukosit. Stres menyebabkan supresi sistem imun sehingga resiko untuk terserang penyakit infeksi dan autoimun lebih besar. Ini disebabkan karena glukokortikoid yang mensupresi aktivitas sistem imun disekresi dalam jumlah besar ( Notosoedirdjo, 1998 dalam Asnar, 2001). Hal ini juga bisa dijelaskan bahwa stres yang diakibatkan stresor renjatan listrik dihantar melalui hipotalamus, disini CRF disekresikan dan merangsang peningkatan sekresi ACTH yang juga meningkatkan sekresi kortisol dalam darah. Peningkatan kortisol ini menyebabkan leukosit di *Marginal Granulocyt Pool* (MGP) menurun dan aliran ke dalam *Circulating Granulocyt Pool* (CGP) meningkat, sehingga leukosit dalam sirkulasi juga meningkat. Akibatnya leukosit yang bermigrasi ke jaringan menurun dan tingkat kekebalan terhadap sebagian besar benda asing yang memasuki tubuh akan berkurang sehingga infeksi bertambah parah karena fagositosis yang menurun (Guyton, 1997).

Hal ini sesuai dengan Ganong (1995) yang menyatakan bahwa perubahan yang terjadi pada keadaan stres dapat berupa perubahan jaringan, seluler dan biokimia. Bila seekor hewan atau manusia terpapar ke satu dari banyak rangsangan berbahaya misalnya stresor atau infeksi oleh bakteri maka akan ada peningkatan sekresi ACTH dan akibatnya peningkatan dalam kadar glukokortikoid yang bersirkulasi. Glukokortikoid ini juga menghambat aktivitas fibroblastik, menurunkan pembengkakan lokal dan menghambat efek sistemik toksin bakteri.

Pengeluaran glukokortikoid karena stres oleh Selye (1982) dapat dijelaskan sebagai berikut, respon yang diinduksi oleh stres menyebabkan perubahan perilaku dan dilanjutkan ke hipotalamus / pituitary / adrenal (HPA) untuk mendorong pelepasan *Coticotropic Releasing Hormon* (CRH) dari Hipotalamus untuk mengeluarkan *Adenocorticotropic Hormon* (ACTH) dan glukokortikoid dari korteks adrenal



termasuk kortisol yang memiliki efek supresif utama melalui mekanisme yang sangat spesifik seperti pengurangan limfosit, monosit dan eosinofil dalam sirkulasi dan menghambat akumulasi eosinofil, makrofag dan neutrofil pada daerah inflamasi. Hormon *Adrenokortikotropik* (ACTH) dari hipofisis anterior merangsang kortek adrenal untuk mengeluarkan kortisol. Sebagai respon terhadap segala jenis jenis situasi stres terjadi peningkatan drastis sekresi kortisol, yang diperantarai oleh susunan saraf pusat melalui peningkatan aktivitas sistem CRH-ACTH (Sherwood, 2001).

Kortisol, merupakan glukokortikoid utama yang berperan penting dalam membantu mengatasi stres. Stres mengacu pada respon imun nonspesifik tubuh terhadap setiap faktor yang mengalahkan kemampuan kompensatorik tubuh dalam mempertahankan homeostasis. Stres mengacu pada keadaan yang yang diinduksi oleh stresor. Semua jenis stres adalah perangsang kuat untuk sekresi kortisol (Sherwood, 2001). Secara umum besarnya peningkatan konsentrasi kortisol plasma sebanding dengan intensitas rangsangan stres. Pengeluaran kortisol lebih banyak dibangkitkan pada respon terhadap stres yang lebih besar dibanding dengan stres ringan.

Menurut Achmad (1995) dalam Putra (2002) bahwa tikus yang mengalami stres terbukti terjadi peningkatan kortisol yang menghambat Ig A sehingga proteksi di mukosa semakin menurun. Sedangkan Asnar (2001) melaporkan bahwa modulasi respon imun mukosal mencit akibat renjatan listrik 7 hari meningkatkan respon imun mukosal sedangkan pada renjatan listrik 14 hari terjadi adaptasi respon imun mukosal.

Dari uraian tersebut diatas dapat diketahui bahwa stres dapat meningkatkan jumlah leukosit darah tepi terutama pada hewan atau manusia yang terpapar *S. aureus*. Peningkatan ini dikarenakan leukosit di MGP menurun sedangkan CGPnya meningkat sehingga menurunkan respon imun. Secara singkat dapat disimpulkan bahwa manusia atau hewan yang mengalami stres akan mengalami penurunan respon imun dan infeksi menjadi lebih parah.

## BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

1. Paparan bakteri *S. aureus* meningkatkan jumlah leukosit darah tepi.
2. Stresor rasa sakit yang dalam hal ini adalah renjatan listrik dapat menyebabkan peningkatan jumlah leukosit darah tepi yang dipapar *S. aureus*.

### 6.2 Saran

1. Untuk penelitian lebih lanjut di sarankan menggunakan jenis bakteri yang lain untuk mengetahui perbedaannya.
2. Penelitian ini dapat sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asnar, E.T.P. 2001. *“Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin Dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respon Imun Mukosal Tikus Yang Stres Akibat Stresor Renjatan Listrik Oleh Pendekatan Psikoneuroimunologi”*. Disertasi Program Doctor pada Program Pasca Sarjana. Surabaya : Unair.
- Atkinson, Jacqueline M. 1997. *Mengatasi Stres Di Tempat Kerja*. Alih Bahasa FX Budiyanto. Editor Lyndon Saputra. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Baker, HJ. JR. 1980. *The Laboratory Rat*. Vol 1. Research Application. San Diego : Academic Press, Inc.
- Bryan, H. Arthur. 1968. *Bacteriology Principles And Practice. Sixth Edition*. New york : Barnes and Noble, Inc.
- Cormack, David H. 1994. *HAM Histologi. Edisi kesembilan*. Alih bahasa Jan Tambajong. Judul asli *Ham’s Histology*. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Dalono, YB. 2002. *“Peranan Stresor Psikologi Pada Pre Eklamsi (PE)”*. Dalam Pertemuan Ilmiah Reguler Nasional III Patobiologi. Surakarta : FK UNS.
- Dewanti, I.D.A.R dan Iin Elyana. 2003. *“Kelelahan Menurunkan Jumlah Sel Radang Pada Luka Traumatik Di Rongga Mulut”*. Dalam Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional. (Agustus, III). Surabaya : FKG Unair.
- Dorland, 1996. *Kamus Kedokteran Dorland*. Alih Bahasa : Tim Penerjemah EGC. Judul Asli *Dorlands Illustrated Medical Dictionary, 1985*. Jakarta : EGC.
- Fitri, Setyawati. 2002. *“Lesi Mukosa Mulut Dengan Latar Belakang Psikomatik”*. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi, Edisi Khusus FORIL Vol. Jakarta : FKG.
- Friedman. 2000. *Hidup Sehat Bagi Eksekutif, Stres, Seks Dan Kebugaran* (Kumpulan Artikel Kesehatan Kompas). Jakarta : Kompas.
- Gabriel, JF. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta : EGC.

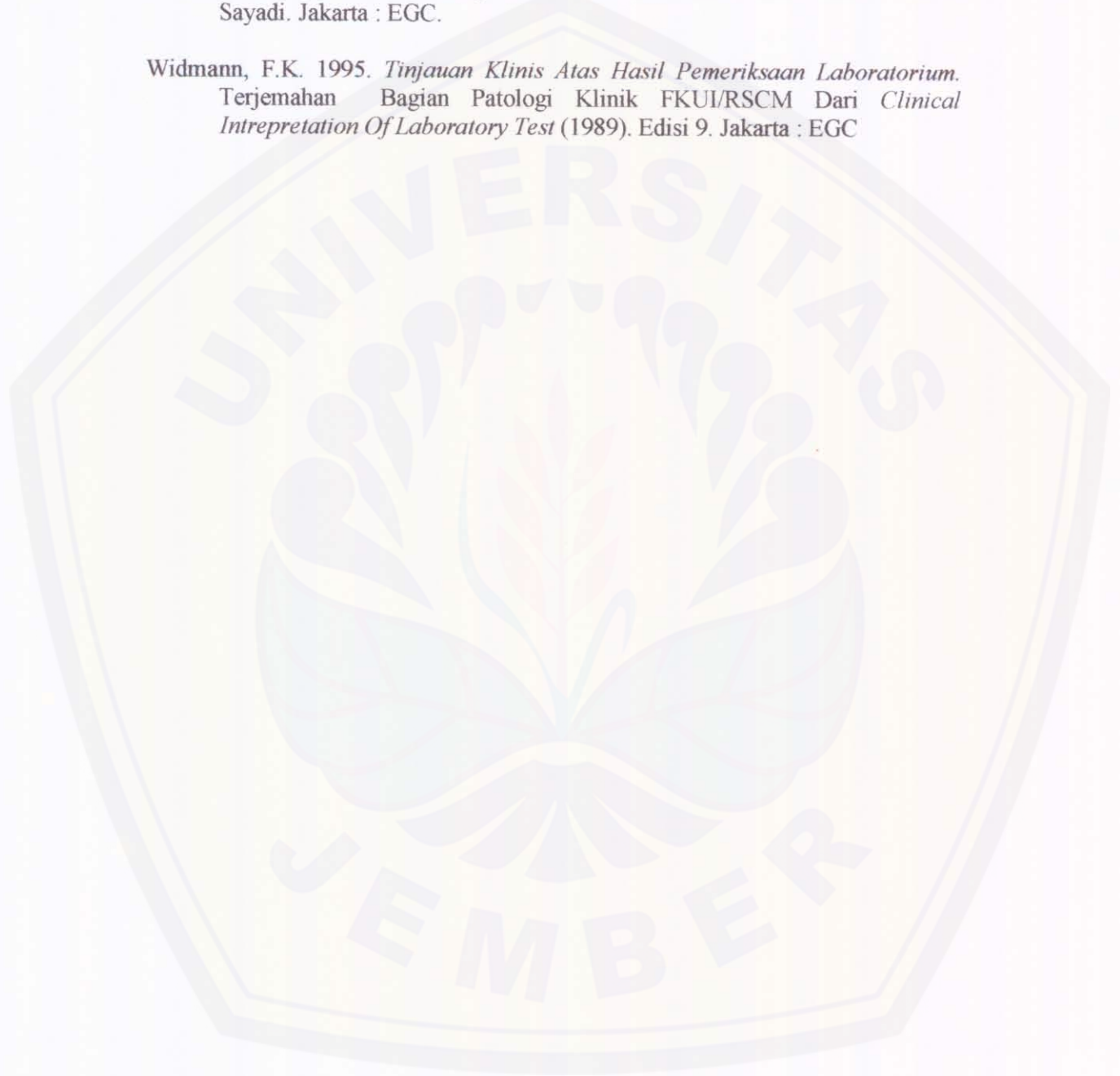
- Guyton, C. Arthur. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 7 bagian 1*. Alih Bahasa Ken Ariata Tengadi. Editor Jonatan Oswari. Judul Asli : *Textbook Of Medical Physiology*. Jakarta : EGC.
- Guyton, C. Arthur. 1990. *Fisiologi Mamusia dan Mekanisme Penyakit. Edisi Revisi*. Alih Bahasa : Petrus Andrianto. Judul Asli : *Human Physiology And Mechanisme Of Disease*. Jakarta : EGC.
- Hart, Tony dan Paul Shears . 1996. *Atlas Berwana Mikrobiologi Kedokteran*. Alih Bahasa: Ferdiawan Pratama. Editor : Kumala Sugiarto. Jakarta : Hipokrates.
- Henry, John Bernard. 1984. *Clinical Diagnosis And Management By Laboratory Method. !7 edition*. Tokyo : Hirokawa Publishing Co.
- Hoffbrand, A.V dan J.E Pettit. 1996. *Haematologi. Edisi kedua*. Alih Bahasa: Iyan Darmawan. Judul Asli: *Essential Haematology*. Jakarta : EGC.
- Jawetz, Ernest , Joseph L. Melnick dan Edward A. Adelberg. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20. alih bahasa Edi Nugroho dkk. Editor Irawati setyawan. Judul asli *Medical Microbiology*. Jakarta : EGC.
- Junqueira, Luis C dan Jose Carneiro. 1998. *Histologi Dasar*. Edisi ke 8. alih bahasa Jan Tambayong. Jakarta : EGC.
- Kuntaraf, Jonatan. 1992. *Olah Raga Sumber Kesehatan*. Bandung : Percetakan Advent Indonesia.
- Leeson, C.Roland, Thomas S. Leeson dan Anthony A. Paparo. 1995. *Buku Ajar Histologi*. Penerjemah S. Koesparto Siswojo dkk. Penyunting Jan Tambajong dan Sugito W. judul asli : *Textbook Of Histology*. Jakarta : EGC.
- Lubis, D.B. 1993. *Pengantar Psikiatri Klinik*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Megawangi, 2003. "Stress". dalam <http://www.media-indo.com> . Accessed April, 15, 2005
- Murray, Patrick R, Ken S. Rosenthal, George S. Kobayashi dan Michael A. Pfaller. 1998. *Medical Microbiology*. Third edition. Mosby Inc.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian. Edisi Revisi*. Jakarta : Penerbit Rieke Pustaka.
- Putra, ST. 1993. "Peran Dan Penerapan Konsep Psikoneuroimunologi Dalam Sport Medicine". Dalam *SDM Lingkungan Lidup dan Bioteknologi*

- Naskah Lengkap Lustrum II Program Pasca Sarjana Unair 17-18 September 1993. Surabaya : Unair.
- Putra, Suhartono. 2002. "*Perkembangan Patobiologi Di Indonesia*". Pertemuan Ilmiah Reguler Nasional III Patobiologi. Solo : FK UNS.
- Rhoades and Flanzer. 1996. *Human Physiology. Third Edition*. United States Of America : Saunders College Publishing.
- Roeslan, B.O. 1996. "*Karakteristik S. mutans Penyebab Karies Gigi*". Dalam Majalah Kedokteran Gigi FKG USAKTI Tahun 10 No 29-30. Jakarta : FKG USAKTI.
- Semple, Peter. 1991. *Tekanan Darah Tinggi*. Alih Bahasa : Meitasari Tjandrasa. Editor : Wijaya. Judul Asli : High Blood Pressure. Jakarta : Arcan.
- Selye, H.1982. *History And Present Status Of The stress Concept*. Dalam *Hand Book Of Stress Theorithical and Clinical Aspect*. Editor : Gold Belger,L dan Broznitz,S.
- Sodeman, William A dan Thomas M Sodeman. 1991. *Patofisiologi. Edisi 7 jilid II*. Alih bahasa Andry Hartono dkk. Editor Joko Suyono. Jakarta : Hipokrates.
- Soenarjo. 1997. "*Stres Dan Cara Mengatasinya*". Di presentasikan Dalam Seminar Antar Disipin Ilmu Dilingkungan Universitas Jember. Jember : PSKG.
- Staf Pengajar Mikrobiologi FKUI. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi revisi*. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Steel, R.G.D dan James H.T. *Prinsip Dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama. Hal. 145.
- Sulistiyani, Erna. 2003. "*Mekanisme Eksaserbasi Reccurent Aphthous Stomatitis Yang Dipicu Oleh Stresor Psikologis*". Dalam Majalah Kedokteran Gigi edisi Khusus Temu Ilmiah Kedokteran III. 6-9 Agustus 2003. Hal 334-337. Surabaya : FKG Unair.
- Sumintarti. 1997. "*Pengaruh Asap Rokok dan Stress Terhadap Respons Imun Mencit*". Penelitian Eksperimental Laboratorium. Disertasi Program Doctor. Program Pasca Sarjana. Surabaya : Unair.
- Suryadhana, Utami dkk. 1997. "*Evaluasi Tingkat Migrasi Neutrofil (NMR) Dalam Mulut Pada Mahasiswa FKG UI Dengan Stres Akademik*". Jurnal Kedokteran Gigi UI. Vol 4 No 3. Jakarta : FKG UI. Hal 1-9.

Tim Perumus, 2005. *Pedoman Penulisan Karya Tulis Ilmiah*. Jember : UPT Penerbitan UNEJ.

Underwood, J.C.E. 1994. *Patologi Umum Dan Sistematis*. Edisi 2 Vol 2. Editor Sayadi. Jakarta : EGC.

Widmann, F.K. 1995. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Terjemahan Bagian Patologi Klinik FKUI/RSCM Dari *Clinical Intrepretation Of Laboratory Test* (1989). Edisi 9. Jakarta : EGC



**Lampiran 1. Penghitungan besar Sampel****PENGHITUNGAN BESAR SAMPEL**

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

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

keterangan :

n : besar sampel minimal

$\sigma\rho^2$  : diasumsikan  $\sigma\rho^2 = 2\delta^2$

$\alpha$  : 0,025

$\beta$  : 0,20

Berdasarkan tabel diperoleh :

$Z\alpha$  : 1,96

$Z\beta$  : 0,85

Maka hasil penghitungan besar sampel adalah sebagai berikut :

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

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

$$n = 7,896$$

$$n = 8$$

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

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

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

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

Sumber : Feedmill Malindo, Gresik



**Lampiran 3. Hitung Jumlah Leukosit****HITUNG JUMLAH LEUKOSIT****a. Membuat Pengenceran**

Biasanya pengenceran 1 : 20 sudah memadai untuk hitung leukosit.

1. Larutan pengencer sebanyak 0,38 ml dimasukkan dengan menggunakan pipet volumetrik 0,5 ml ke dalam tabung ukuran 75 x 10 mm.
2. Tambahkan 20  $\mu$ l darah EDTA ke dalam tabung tersebut sehingga darah diencerkan 1 : 20. Pada waktu mengambil 20  $\mu$ l darah EDTA jangan lupa mengocok botol darah dengan baik agar darah di dalam botol menjadi homogen. Sebelum memasukkan 20  $\mu$ l darah ke dalam larutan pengencer, hapuslah kelebihan darah yang ada di luar pipet. Hati-hati agar darah di dalam pipet tidak ikut terserap.
3. Darah yang tersisa di dalam pipet dibilas dengan mengisap dan mengeluarkan larutan pengencer sebanyak 3 kali.
4. Tabung tersebut ditutup dengan parafilm dan dicampur hingga homogen. Pencampuran ini dilakukan selama 1 menit (FKUI, 1996).

**b. Mengisi kamar hitung**

1. Kaca penutup kamar hitung diletakkan pada tempatnya. Kamar hitung harus dalam keadaan bersih dan kering.
2. Isilah kamar hitung dengan darah yang sudah diencerkan tadi dengan menggunakan pipet Pasteur.
3. Kamar hitung setelah diisi dibiarkan selama 3 menit (FKUI, 1996).

**c. Menghitung jumlah sel**

1. Letakkan kamar hitung dengan hati-hati di bawah mikroskop dalam keadaan rata air. Turunkan kondensor atau kecilkan diafragma. Gunakanlah pembesaran kecil untuk mencari daerah yang akan dihitung. Setelah itu

penghitungan sel dilakukan dengan menggunakan lensa obyektif 10x dan lensa okuler 10x (10 x 10).

2. Perlu dihitung minimal 100 sel. Hal ini dapat dicapai dengan menghitung semua leukosit yang ada pada ke 4 bidang besar yang masing-masing luasnya  $1 \text{ mm}^2$  yaitu bidang 1, 2, 3 dan 4 (lihat gambar 1) dengan volume yang dihitung sebesar  $4 \times 1 \times 0,1 \text{ } \mu\text{l} = 0,4 \text{ } \mu\text{l}$ . Atau bila jumlah leukosit dalam 2 buah bidang besar yaitu misalnya bidang 1 dan 3 telah melebihi jumlah 100 sel maka sudah dapat dilakukan penghitungan jumlah leukosit dengan catatan bahwa volume yang dihitung sebesar  $2 \times 1 \times 0,1 \text{ } \mu\text{l} = 0,2 \text{ } \mu\text{l}$ .
3. Cara menghitung leukosit di dalam kamar hitung dapat dilihat pada gambar 2. Mulailah menghitung dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri, lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan. Cara seperti ini dilakukan pada ke empat bidang besar. Kadang – kadang ada sel-sel yang letaknya menyinggung garis batas sesuatu bidang. Sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung. Sebaliknya sel-sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak ikut dihitung (FKUI, 1996).

#### d. Penghitungan

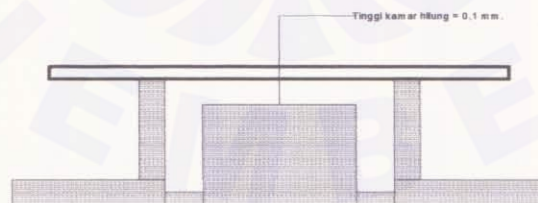
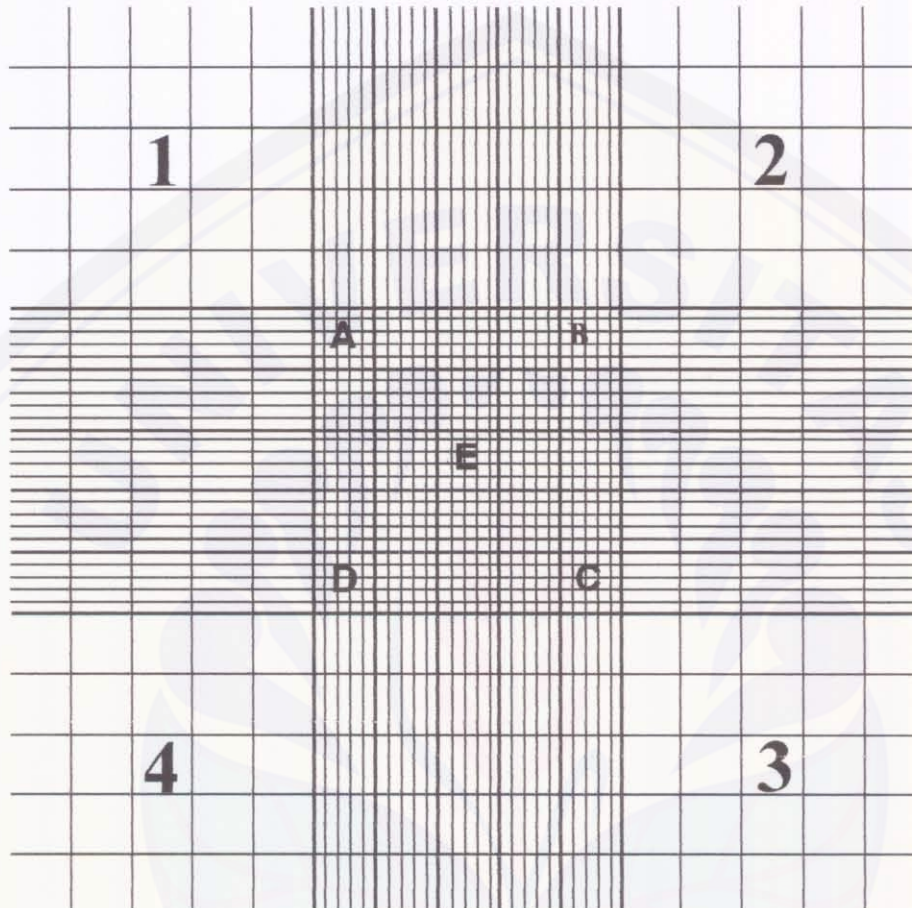
Jumlah leukosit yang dihitung =

jumlah leukosit / volume yang dihitung ( $\mu\text{l}$ ) x faktor pengenceran

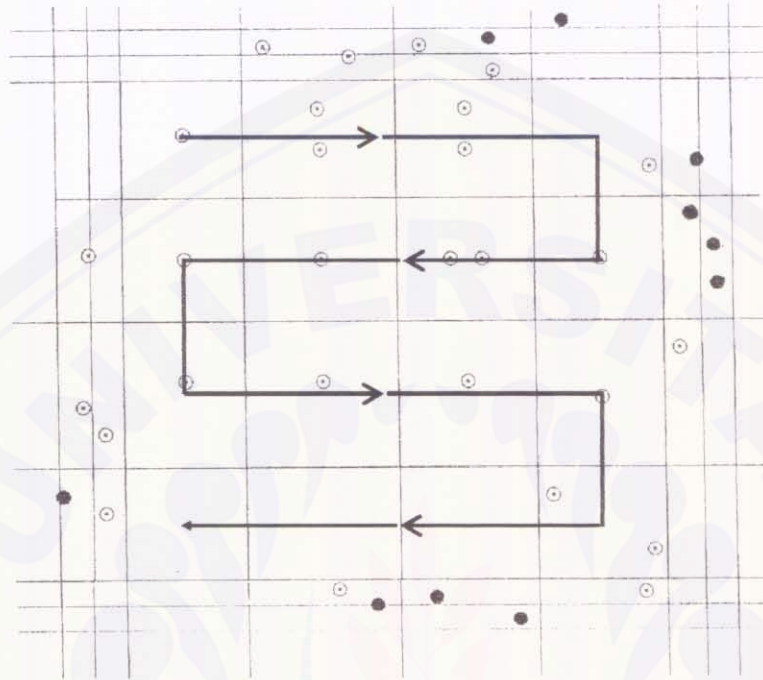
Bila jumlah leukosit dalam ke 4 bidang besar (bidang 1,2,3 dan 4) adalah N, maka:

$$\text{Jumlah leukosit} = \frac{N}{0,4} \times 20 / \mu\text{l} = 50 N / \mu\text{l} \text{ darah atau } 0,05 N \times 10^9/\text{L}$$

(FKUI, 1996)



**Gambar 7. Kamar hitung *improved Neubauer***



Keterangan :

○ sel yang dihitung

● sel yang tidak dihitung

**Gambar 8. Cara Menghitung Leukosit di Dalam Kamar Hitung**



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

PEMERIKSAAN LEKOSIT TOTAL  
PADA TIKUS WISTAR

HINDUN MARDIYANA

KODE	LEKOSIT
A 1	5600
A 2	6200
A 3	5900
A 4	6400
A 5	5700
A 6	6800
A 7	6400
A 8	7500
B 1	7200
B 2	7900
B 3	5300
B 4	6900
B 5	7600
B 6	6800
B 7	8100
B 8	6800
C 1	7900
C 2	9100
C 3	8900
C 4	11.200
C 5	10.400
C 6	9800
C 7	6700
C 8	9200

Kepala Labkesda

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

Lampiran 5. Analisa Data Leukosit

Case Processing Summary

	PERLAKUAN	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
LEUKOSIT TOTAL	KONTROL	8	100,0%	0	,0%	8	100,0%
	PERLAKUAN 1	8	100,0%	0	,0%	8	100,0%
	PERLAKUAN 2	8	100,0%	0	,0%	8	100,0%

Descriptives

LEUKOSIT TOTAL	PERLAKUAN		Statistic	Std. Error		
LEUKOSIT TOTAL	KONTROL	Mean	6312,50	220,74		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 5790,52 Upper Bound 6834,48			
		5% Trimmed Mean	6286,11			
		Median	6300,00			
		Variance	389821,4			
		Std. Deviation	624,36			
		Minimum	5600			
		Maximum	7500			
		Range	1900			
		Interquartile Range	950,00			
		Skewness	,883	,752		
		Kurtosis	,679	1,481		
		LEUKOSIT TOTAL	PERLAKUAN 1	Mean	7075,00	309,23
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 6343,78 Upper Bound 7806,22	
				5% Trimmed Mean	7116,67	
Median	7050,00					
Variance	765000,0					
Std. Deviation	874,64					
Minimum	5300					
Maximum	8100					
Range	2800					
Interquartile Range	1025,00					
Skewness	-1,097			,752		
Kurtosis	1,885			1,481		
LEUKOSIT TOTAL	PERLAKUAN 2			Mean	9150,00	496,78
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 7975,31 Upper Bound 10324,69	
				5% Trimmed Mean	9172,22	
		Median	9150,00			
		Variance	1974286			
		Std. Deviation	1405,09			
		Minimum	6700			
		Maximum	11200			
		Range	4500			
		Interquartile Range	2100,00			
		Skewness	-,400	,752		
		Kurtosis	,268	1,481		

## Tests of Normality

PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
LEUKOSIT TOTAL KONTROL	,194	8	,200*	,934	8	,520
PERLAKUAN 1	,252	8	,145	,903	8	,355
PERLAKUAN 2	,179	8	,200*	,978	8	,950

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variance

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
LEUKOSIT TOTAL Based on Mean	1,408	2	21	,267
Based on Median	1,407	2	21	,267
Based on Median and with adjusted df	1,407	2	14,442	,277
Based on trimmed mean	1,404	2	21	,268

## ANOVA

LEUKOSIT TOTAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34502500	2	17251250,00	16,539	,000
Within Groups	21903750	21	1043035,714		
Total	56406250	23			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: LEUKOSIT TOTAL

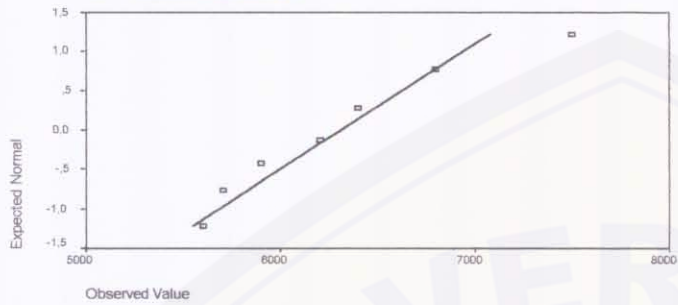
Tukey HSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KONTROL	PERLAKUAN 1	-762,50	510,65	,314	-2049,62	524,62
	PERLAKUAN 2	-2837,50*	510,65	,000	-4124,62	-1550,38
PERLAKUAN 1	KONTROL	762,50	510,65	,314	-524,62	2049,62
	PERLAKUAN 2	-2075,00*	510,65	,002	-3362,12	-787,88
PERLAKUAN 2	KONTROL	2837,50*	510,65	,000	1550,38	4124,62
	PERLAKUAN 1	2075,00*	510,65	,002	787,88	3362,12

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

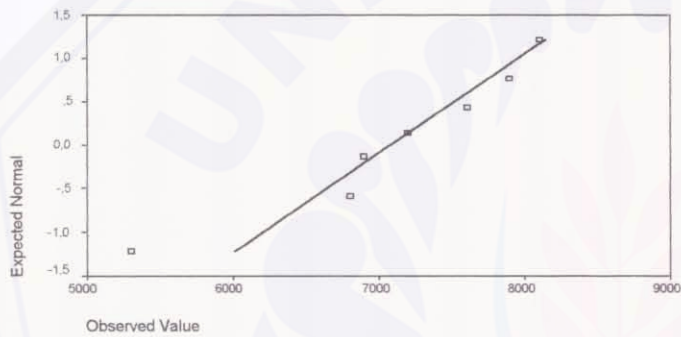
Normal Q-Q Plot of LEUKOSIT TOTAL

For VAR00002= KONTROL



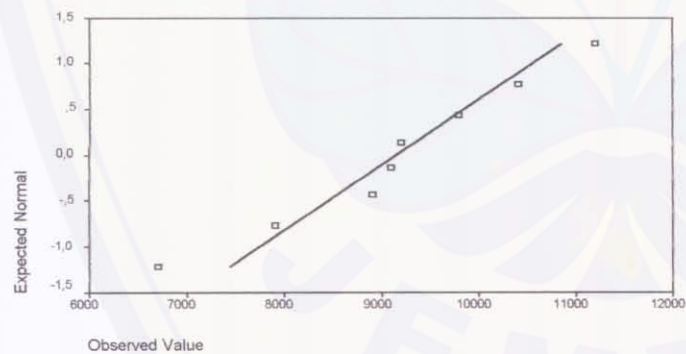
Normal Q-Q Plot of LEUKOSIT TOTAL

For VAR00002= PERLAKUAN 1



Normal Q-Q Plot of LEUKOSIT TOTAL

For VAR00002= PERLAKUAN 2





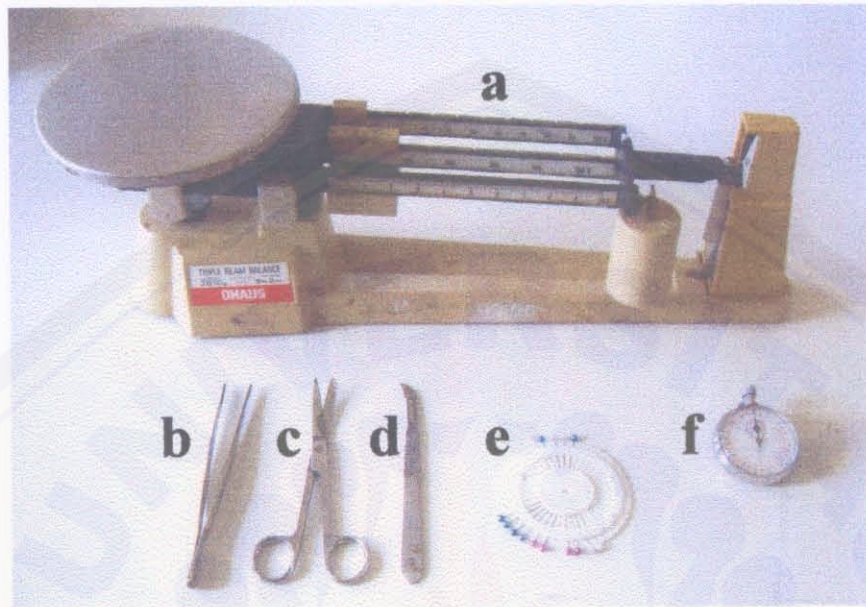
**Lampiran 6. Foto Penelitian**



Kandang Pemeliharaan

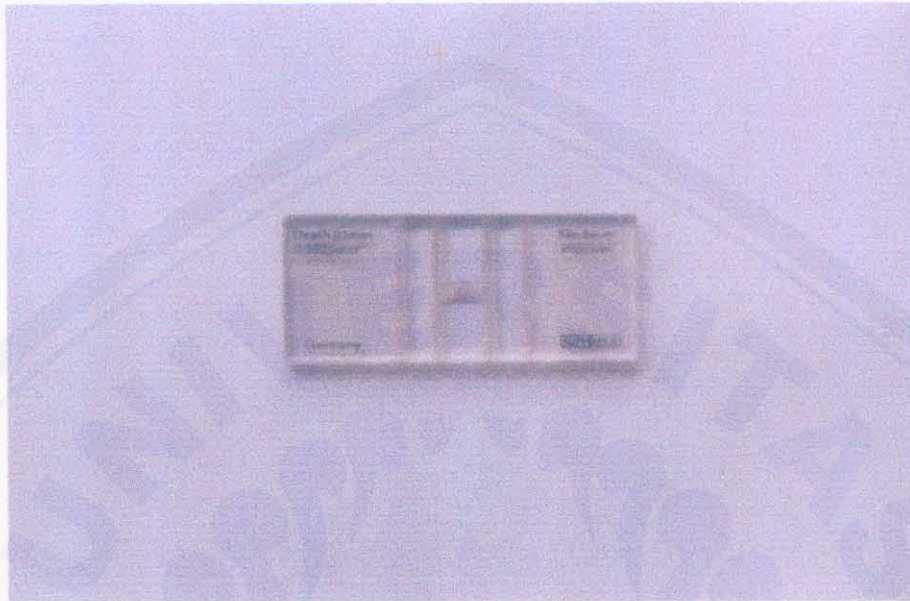


Kandang Perlakuan (*Electrical Foot Shock*)

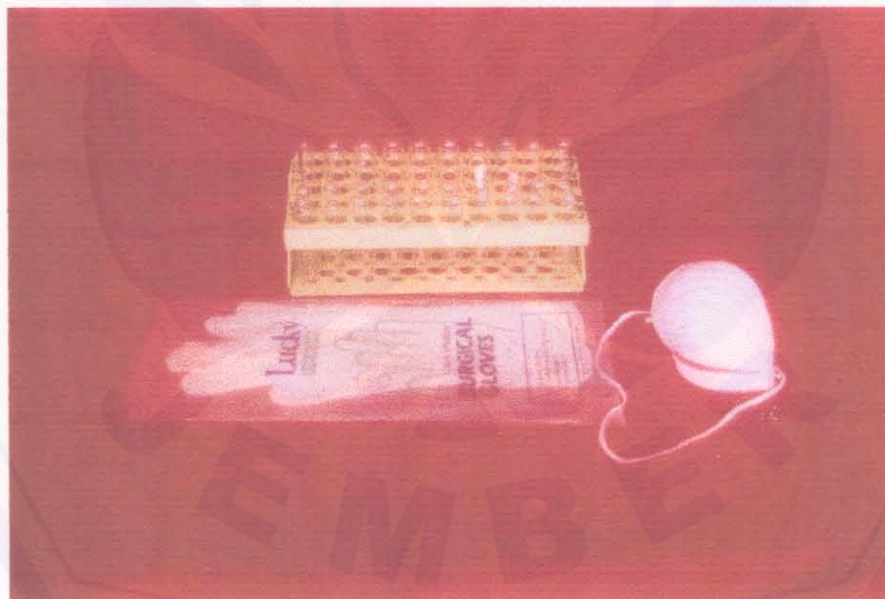


Keterangan gambar:

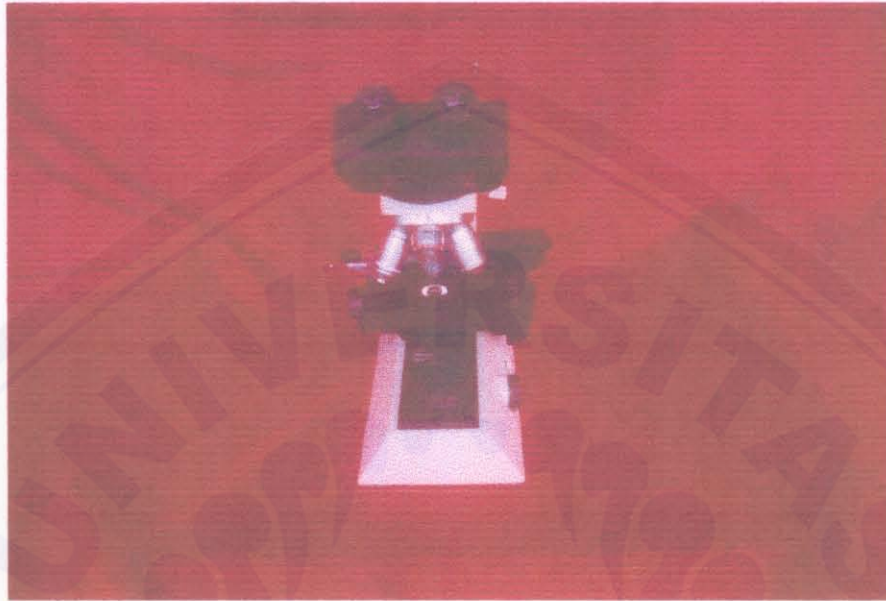
- a. neraca Ohaus
- b. pinset
- c. gunting bedah
- d. blade scalpel
- e. jarum fiksasi
- f. stopwatch



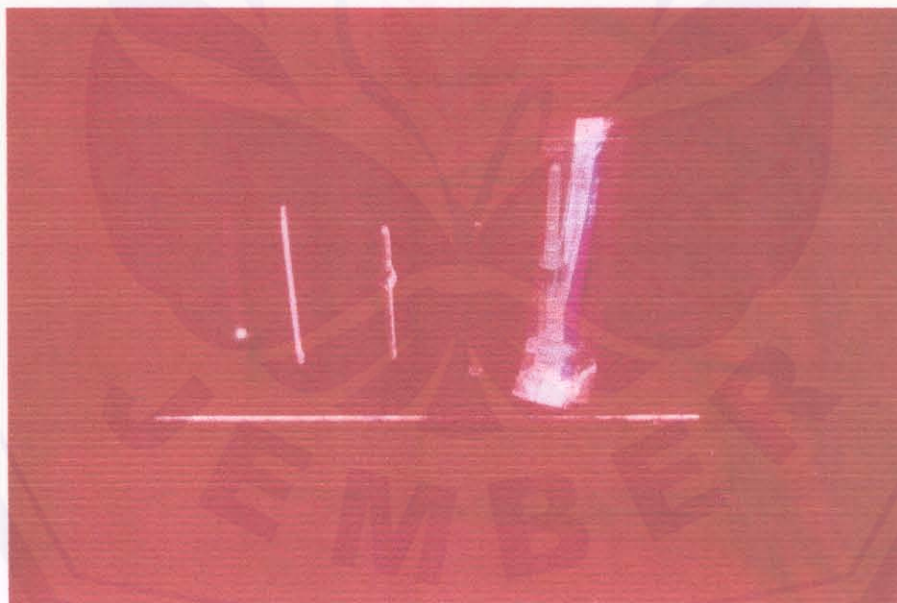
Keterangan gambar : Kamar hitung Improved Neubaur



Keterangan gambar :  
a. Tabung reaksi  
b. Sarung tangan  
c. Masker



Keterangan gambar : Mikroskop binokuler



Keterangan gambar :

- |                        |                             |                       |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| a. Pipet pasteur       | c. Pipet eritrosit/leukosit | e. Disposable syringe |
| b. Pipet kapiler Sahli | d. Pipet Hemometer          | f. Pipet Volumetrik   |