



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN  
MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) TERHADAP JUMLAH  
LIMFOSIT DARAH TEPI TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIPAPAR STRESOR RASA SAKIT**

**SKRIPSI**

Asal :	Head-sh Pemberian	Kelas 615.002
Tahun di : 03	di kelas	SUR
No induk :		P
Pengkatalog :		

Oleh :

**Ade Suryaningsih**  
021610101073

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2006**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN  
MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) TERHADAP JUMLAH  
LIMFOSIT DARAH TEPI TIKUS WISTAR JANTAN  
YANG DIPAPAR STRESOR RASA SAKIT**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai  
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

Oleh :  
**Ade Suryaningsih**  
021610101073

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2006**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. **ALLAH SWT**, Sang penguasa "Raja semesta alam" sebagai bukti ucapan syukur saya kepada-NYA.
2. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. Keluarga besar saya, orang tua tersayang, **ibunda Nursyam** dan **ayahanda Eddy Rasya**, yang selalu sabar, penuh pengertian dan tidak lepas mengirimkan doanya untuk saya; kaka dan adik terkasih, **Da'i, Min2, da-Way, Teguh, Mu2t**, yang selalu memberikan support, semangat, dan cinta kasihnya; keponakan-keponakan saya yang lucu, **Ayes, Aan, Diko, Wira, Ami, Oyi, Cinta** yang selalu memberikan warna dan keceriaan.
4. Keluarga besar **ibu dan bapak Ruslan di Lumajang**, yang selalu memberikan cintanya dengan tulus dan sepenuh hati.
5. **'MY SOULMATE'** **Adrian wahyudi dewangga**, terima kasih sudah memberikan semua cinta dan kasih sayangnya.
6. Keluarga besar gang Blora especially untuk **Susan**, yang tanpa pamrih selalu membantu tiap saya dirundung kesulitan. Makasih yach, dekk.

**MOTTO**

Berikanlah selalu semua yang paling terbaik untuk orang yang kamu sayangi dan menyayangi kamu betapapun sulit jalan untuk mendapatkannya. Buatlah agar mereka selalu tersenyum. Sedih mereka adalah sedihmu, namun sedihmu adalah sedihmu.

(by Ade)

"Sesungguhnya ALLAH SWT tidak akan memberikan suatu cobaan pada umat-Nya melebihi batas kemampuan umat-Nya tersebut"



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Ade Suryaningsih

NIM : 021610101073

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul "*PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DARAH TEPI TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIPAPAR STRESOR RASA SAKIT*" 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, 6 November 2006

Yang menyatakan,



Ade Suryaningsih

Nim : 021610101073

**PENGESAHAN**

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari : Senin

tanggal : 6 November 2006

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

drg. Erna Sulistyani, M.Kes.

NIP 132 148 478

Sekretaris,

drg. Atik Kurniawati, M.Kes

NIP. 132 206 024

Anggota,

drg. Sri Hernawati, M.Kes.

NIP. 132 304 774

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi



drg. Zahreni Hamzah, MS.

NIP 131 558 576

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Jumlah Limfosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Stresor Rasa Sakit. Ade Suryaningsih, 021610101073, 2006, 54 hal.**

Sampai sekarang stres menjadi masalah yang sangat penting untuk segera diselesaikan karena prevalensi stres di masyarakat sangat tinggi (Priandini, 1999). Beberapa peneliti berpendapat bahwa sekitar 75 %, tidak ada penyakit yang sama sekali bebas dari stres (Priandini, 1999). Lebih dari 50 % dalam satu tahun orang-orang yang mengalami stres menunjukkan masalah kesehatan dan 79 % jatuh sakit pada tahun berikutnya (Atkinson dan Atkinson, 1999). Stres merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam, stres merupakan respons terhadap stresor. Stresor dapat mempengaruhi sistem imun yang ditandai dengan penurunan respons imun. Salah satu tanaman obat yang dipercaya meningkatkan respons imun adalah ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*). Pada penelitian ini, kami ingin mengungkap pengaruh ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap sistem imun pada kondisi stres.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui perbedaan jumlah limfosit darah tepi tikus wistar jantan yang diberikan ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) dan dipapar stresor rasa sakit dengan yang hanya dipapar stresor rasa sakit. Manfaat penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap jumlah limfosit darah tepi, sebagai pertimbangan klinis terhadap pengelolaan pasien pada kondisi stres dan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorium. Sampel penelitian adalah 8 ekor pada masing-masing kelompok yang diberikan 3 macam perlakuan sehingga

jumlah keseluruhan tikus wistar jantan adalah 24 ekor. Kelompok (A) adalah kelompok kontrol, tikus hanya diberikan aquadest steril sebesar 2 ml pada hari 1-7. Kelompok (B) adalah kelompok perlakuan I, tikus diberi aquadest steril sebesar 2 ml dan stresor renjatan listrik. Kelompok (C) adalah kelompok perlakuan II, tikus diberi ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) dengan menggunakan sonde lambung dan stresor renjatan listrik. Selanjutnya, pada hari ke-7, hewan coba dikorbankan dan dilakukan pengambilan darah intrakardial minimal 30-60 menit setelah pemberian stresor renjatan listrik. Jumlah limfosit dihitung per  $\text{mm}^3$  dengan cara mengalikan hitung jenis fragmen limfosit dengan jumlah leukosit total.

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas dilanjutkan uji statistik parametrik Anova *One Way* ( $p < 0,05$ ) dan hasilnya menunjukkan ada perbedaan jumlah limfosit pada ketiga kelompok. Kemudian dilanjutkan uji Tukey HSD ( $p < 0,05$ ) dan hasilnya menunjukkan tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol (A) dengan perlakuan I (B). Hal ini dikarenakan hitung jenis fragmen limfosit yang menurun sedangkan jumlah leukosit total meningkat sehingga apabila dikalikan hasilnya tidak signifikan. Penurunan hitung jenis fragmen limfosit dikarenakan pada kondisi stres akibat stresor dapat memicu sekresi glukokortikoid, yang selanjutnya menekan jumlah limfosit T serta mengganggu maturasi limfosit B untuk menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi. Peningkatan jumlah leukosit total dikarenakan adanya pengaruh stresor yang menyebabkan pengeluaran glukokortikoid yang berpengaruh terhadap distribusi leukosit. Peningkatan glukokortikoid menyebabkan leukosit di MGP menurun dan aliran ke CGP meningkat dan mengakibatkan leukosit meningkat dalam sirkulasi. Hal ini menyebabkan leukosit yang siap bermigrasi ke jaringan menurun (Hoffbrand, 1996).

Pada kelompok perlakuan II (C) terdapat peningkatan jumlah limfosit dibandingkan dengan perlakuan I (B). Hal ini dikarenakan peningkatan hitung jenis fragmen limfosit yang sedemikian tinggi sehingga meskipun jumlah leukosit total

menurun, diperoleh hasil jumlah limfosit pada kelompok perlakuan II (C) tetap lebih tinggi dibandingkan perlakuan I (B). Peningkatan hitung jenis fragmen limfosit kemungkinan disebabkan ekstrak tanaman meniran yang mengandung flavonoid menghambat sekresi glukokortikoid, sehingga leukosit di MGP meningkat dan aliran ke CGP menurun dan mengakibatkan leukosit menurun dalam sirkulasi. Dengan adanya penghambatan sekresi glukokortikoid, selanjutnya jumlah limfosit T, limfosit B dan tampak fragmen limfosit pada hitung jenis yang meningkat. Dari uraian tersebut diatas diketahui bahwa pemberian stresor dapat menurunkan jumlah limfosit darah tepi sedangkan pemberian ekstrak tanaman meniran dapat meningkatkan jumlah limfosit darah tepi.

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul "PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TANAMAN MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT DARAH TEPI TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIPAPAR STRESOR RASA SAKIT". Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. drg. Zahreni Hamzah, MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Erna Sulistyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU); drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta perhatiannya guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. drg. Atik Kurniawati, M.Kes., selaku sekretaris yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran dalam penyelesaian skripsi ini;
4. Seluruh staf dan karyawan/karyawati Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, khususnya mas Agus dan Staf Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember, khususnya mbak Endang, terima kasih atas semua bantuannya;
5. Keluarga besar saya, orang tua tersayang, ibunda Nursyam dan ayahanda Eddy Rasya, yang selalu sabar, penuh pengertian dan tidak lepas mengirimkan doanya untuk saya; kaka dan Adik terkasih, Da'i, Min2, Uda Way, Teguh, Mu2t, yang selalu memberikan support, semangat, dan cinta kasihnya.

keponakan-keponakan saya yang lucu, Ayes, Aan, Diko, Wira, Ami, Oyi, Cinta yang selalu memberikan warna dan keceriaan;

6. Keluarga besar ibu dan bapak Ruslan di Lumajang yang selalu memberikan cintanya dengan tulus dan sepuh hati;
7. 'MY SOULMATE' Adrian wahyudi dewangga, terima kasih sudah bersedia menjadi bagian penting dalam hidup saya;
8. Keluarga besar gang Blora especially untuk Susan yang tanpa pamrih selalu membantu tiap saya dirundung kesulitan;
9. Rekan penelitian; Ciput, Fery, Yeny, Vilana, mba Farida, mba Ita, Berlian yang telah saling membantu dan berjuang bersama;
10. Teman-teman KKT kelompok 14 desa Gugut kecamatan Rambipuji kabupaten Jember; Macuka-cuka, Hasan, Tolo, De2 syaif, Erna, Ibu Ros, Winda, Linda, Nita, yang telah menemani saya menderita bersama selama 45 hari di Posko Tercinta;
11. Keluarga besar rental Merdeka, especially mas Go2n, yang selalu siap memberikan bantuannya;
12. Teman-teman seangkatan dan seperjuangan FKG 2002, Mari berjuang terus;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terima kasih untuk kalian semua. I LOVE U ALL

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

Jember, November 2006

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN .....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Ekstrak Tanaman Meniran (<i>Phyllanthus niruri</i>) .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Habitat Tanaman Meniran.....	4
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Meniran .....	4
2.1.3 Morfologi Tanaman Meniran.....	5
2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Meniran .....	6
2.1.5 Khasiat Tanaman Meniran .....	6
2.1.6 Ekstrak Tanaman Meniran sebagai Imunomodulator .....	9

<b>2.2 Imunomodulator/imunostimulator</b> .....	10
2.2.1 Bahan Imunomodulator/Imunostimulator .....	11
2.2.2 Imunomodulator Biologi .....	12
2.2.3 Imunomodulator Sintetis .....	13
<b>2.3 Limfosit</b> .....	13
2.3.1 Morfologi Limfosit .....	13
2.3.2 Populasi Limfosit .....	14
2.3.3 Limfosit dan Proses Inflamasi .....	18
2.3.4 Peranan Limfosit .....	19
<b>2.4 Stres</b> .....	19
2.4.1 Definisi Stres .....	19
2.4.2 Mekanisme Stres dalam Hubungannya dengan Sistem Imun .....	21
2.4.3 Electrical Foot Shock .....	22
2.4.3.1 Stresor Renjatan Listrik .....	23
2.4.3.2 Jalur Stresor Renjatan Listrik .....	25
2.4.4 Hubungan Stres, Jumlah Limfosit, dan Ekstrak Tanaman Meniran .....	26
2.4.4.1 Hubungan Stres dengan Sekresi Kortisol .....	26
2.4.4.2 Hubungan Kortisol dengan Jumlah Limfosit .....	27
2.4.4.3 Hubungan Ekstrak Tanaman Meniran dengan Jumlah Limfosit .....	28
<b>2.5 Tikus Wistar Jantan</b> .....	29
<b>2.6 Hipotesa</b> .....	29
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	30
<b>3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	30
3.1.1 Jenis Penelitian .....	30
3.1.2 Tempat Penelitian .....	30
3.1.3 Waktu Penelitian .....	30

<b>3.2 Identifikasi Variabel Penelitian</b> .....	30
3.2.1 Variabel Bebas .....	30
3.2.2 Variabel Terikat .....	30
3.2.3 Variabel Terkendali.....	31
<b>3.3 Definisi Operasional Variabel</b> .....	31
<b>3.4 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	32
3.4.1 Populasi .....	32
3.4.2 Sampel.....	32
3.4.3 Besar Sampel.....	32
<b>3.5 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	33
3.5.1 Alat-Alat Penelitian.....	33
3.5.2 Bahan Penelitian.....	34
<b>3.6 Konversi Dosis Ekstrak Tanaman Meniran</b> .....	34
<b>3.7 Prosedur Penelitian</b> .....	35
3.7.1 Tahap Persiapan Hewan Coba .....	35
3.7.2 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba .....	35
3.7.3 Tahap Penghitungan Jumlah Limfosit .....	36
<b>3.8 Analisa Data</b> .....	37
<b>3.9 Skema Penelitian</b> .....	38
<b>BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA</b> .....	39
4.1 Hasil.....	39
4.2 Analisa Data.....	42
<b>BAB 5. PEMBAHASAN</b> .....	45
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	49
6.1 Kesimpulan .....	49
6.2 Saran.....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	50
<b>LAMPIRAN</b> .....	55

## DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Penghitungan Hitung Jenis Fragmen Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C) .....	40
4.2 Hasil Penghitungan Jumlah Leukosit Total pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C) .....	40
4.3 Hasil Penghitungan Jumlah Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C) .....	41
4.4 Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov pada Penghitungan Jumlah Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C) .....	42
4.5 Hasil Uji Homogenitas pada Penghitungan Jumlah Limfosit .....	42
4.6 Hasil Uji Anova One Way pada Penghitungan Jumlah Limfosit .....	43
4.7 Hasil uji Tukey HSD pada Penghitungan Jumlah Limfosit .....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman Meniran.....	5
2.2 Mikrograf Elektron sebuah Limfosit Darah Manusia.....	14
2.3 Limfosit Kecil ( <i>Wright's</i> ).....	15
2.4 Limfosit T dengan Azurgranulasi ( <i>Pappenheim</i> ).....	16
2.5 Limfosit Sedang ( <i>Wright's</i> ).....	17
2.6 Limfosit Besar dengan Granulasi Azur, Limfosit Granula Besar (Large Granula Lymphocyte=LGL), "Natural Killer Cell" (NK-Cell).....	18
2.7 Jalur Stresor Renjatan Listrik.....	25
3.1 Kolom Hitung Jenis Leukosit.....	37
4.1 Histogram Jumlah Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C).....	41

**DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
A. Penghitungan Besar Sampel.....	55
B. Konversi Dosis Ekstrak Tanaman Meniran .....	56
C. Makanan Standar Tikus.....	57
D. Penghitungan Jumlah Limfosit .....	58
E. Hasil Analisa Data.....	60
F. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	62
G. Hasil Laboratorium Pemeriksaan Jumlah Limfosit.....	65



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sampai sekarang stres menjadi masalah yang sangat penting untuk segera diselesaikan karena prevalensi stres di masyarakat sangat tinggi (Priandini, 1999). Beberapa peneliti berpendapat bahwa sekitar 75 %, tidak ada penyakit yang sama sekali bebas dari stres (Priandini, 1999). Lebih dari 50 % dalam satu tahun orang-orang yang mengalami stres menunjukkan masalah kesehatan dan 79 % jatuh sakit pada tahun berikutnya. Orang-orang dengan stres yang tinggi tingkat kematian mereka adalah 40 % lebih tinggi (Atkinson dan Atkinson, 1999). Berbagai jenis stresor baik stresor fisik seperti trauma, pembedahan maupun psikologis seperti takut, cemas menyebabkan gangguan emosional dan psikosomatik seperti keadaan stres (Lubis, 2000). Kejadian atau lingkungan yang menimbulkan perasaan tegang disebut sebagai stresor (Smet, 1994). Stres berhubungan dengan penurunan respons imun (Atkinson dan Atkinson, 1999). Penurunan respons imun yang berhubungan dengan stres sampai sekarang masih sulit ditangani.

Banyak fakta yang membuktikan bahwa individu yang mengalami stres, cemas dan depresi akan mudah terserang berbagai macam penyakit (Putra, 1993). Stres berhubungan dengan terjadinya kelainan di dalam rongga mulut seperti Sindroma mulut terbakar (*Oral dysesthesia glossodynia atau Glossopyrosis*), *Acute Ulcerative Gingivitis* (Gayford, 1991; Forrest, 1995; Priandini dan Subita, 1999). Sekitar 40,1 % *Recurrent Aphthous Ulceration (RAU)* pada wanita berhubungan dengan gangguan keseimbangan hormonal dan stres pada saat masa haid (Suhardjo, dkk, 2003). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui hubungan stres dengan penurunan respons imun.

Salah satu tanaman obat yang dipercaya meningkatkan respons imun adalah ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*). Ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus*

*niruri*) merupakan salah satu tanaman obat asli Indonesia yang sering digunakan masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit (Sampurna, 2005). Ekstrak ini mengandung flavonoid yang menempel ke sel imun dan memberikan sinyal intraseluler atau rangsangan untuk mengaktifkan kerja sel imun lebih baik (Ma'at, 2002).

Banyak kendala yang dihadapi dalam melakukan penelitian mengenai pengaruh stresor terhadap kesehatan individu. Hal ini karena stres pada manusia bersifat subyektif sehingga sulit diukur (Suryadana, 1997). Demikian juga dengan penggunaan hewan coba, terkadang sulit untuk menentukan apakah hewan tersebut sudah dikatakan dalam keadaan stres atau tidak (Bagnara and turner, 1998).

Menurut *Medicophysiological Approach* (MA), stres merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam, stres merupakan respons terhadap stresor. Pendekatan ini juga berpendapat bahwa stresor tidak hanya terbatas pada stresor psikis tetapi juga stresor fisik. Berdasarkan pendekatan diatas, maka penelitian tentang stres bisa dilakukan dengan hewan coba.

Dari uraian tersebut, maka peneliti akan melakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap jumlah limfosit darah tepi tikus wistar jantan yang dipapar stresor rasa sakit. Meniran yang digunakan adalah ekstrak tanaman meniran dalam bentuk sediaan yang sudah jadi. Jumlah limfosit dipilih oleh karena berperan penting dalam proses pertahanan tubuh dan merupakan bagian dari sel darah putih. Jumlah limfosit merupakan indikator baik/tidaknya respons imun. Stresor rasa sakit yang digunakan adalah renjatan listrik pada tapak kaki dengan menggunakan alat yang diadaptasikan dari "*Electrical foot shock*" dan metode yang digunakan adalah eksperimental laboratoris (Asnar, 2003).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut menimbulkan suatu permasalahan yaitu apakah terdapat perbedaan jumlah limfosit darah tepi tikus wistar jantan yang diberikan ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) dan dipapar stresor rasa sakit dengan yang hanya dipapar stresor rasa sakit?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan jumlah limfosit darah tepi tikus wistar jantan yang diberikan ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) dan dipapar stresor rasa sakit dengan yang hanya dipapar stresor rasa sakit.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap jumlah limfosit darah tepi.
2. Digunakan sebagai pertimbangan klinis terhadap pengelolaan pasien pada kondisi stres.
3. Digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*)

#### 2.1.1 Habitat Tanaman Meniran

Tanaman meniran (*Phyllanthus urinaria* L atau *P. niruri* L) merupakan terna semusim yang mudah tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Tumbuhan ini sering dijumpai di hutan, di ladang, semak-semak, sepanjang jalan, di tepi sungai, di pantai, di tempat yang tanahnya lembah, berpasir, tanah berumput gembur maupun bebatuan dan bahkan tumbuh liar di sekitar pekarangan rumah. Meniran dapat tumbuh di dataran rendah sampai pada daerah dengan ketinggian hingga 1.000 meter dari atas permukaan laut (Gusrizal, 2003). Semua bagian dari tanaman ini yang berada di atas tanah berkhasiat sebagai obat, berbau aromatik dan rasanya pahit (Kartasapoetra, 1996).

#### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman Meniran

Klasifikasi	:
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Phyllanthus</i>
Spesies	: <i>Phyllanthus urinaria</i> L atau <i>P. niruri</i> L

(Tjitrosoepomo, 1991; Sulaksana, 2004)

### 2.1.3 Morfologi Tanaman Meniran

Ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) adalah salah satu jenis tanaman obat (*herbal medicine*) yang sudah lama dikenal di Indonesia dengan nama daun meniran. Tanaman ini juga dikenal dengan nama dukung anak (Malaka), meniran ijo, meniran (Jawa, Sunda), dan *gossau ma dugi* (Ternate). Secara etnomedisinal meniran digunakan masyarakat di berbagai belahan dunia. Di India tanaman ini dijuluki dengan *chanca piedra*, sementara di Amerika Selatan disebut sebagai *stone breaker*. Sifat khas tanaman meniran adalah tidak berasa dan menetralkan (Soedibyo, 1998).

Morfologi tanaman meniran sebagai berikut :

1. Tumbuhan terna yang tumbuh tegak dengan tinggi 30-60 cm,
2. Batang rampong, masif, bulat, licin, tidak berambut, berwarna hijau kemerahan dan diameternya  $\pm 3$  mm, garis tengah 1-3 mm, cabang bagaikan tangkai daun dengan garis tengah 0,25-1 mm,
3. Daun kecil-kecil, majemuk, berseling, menyirip genap dan berbentuk bulat telur sampai lonjong, anak daun 15-24, berwarna hijau, dengan panjang  $\pm 1,5$  cm dan lebar  $\pm 7$  mm, tepi rata, ujung tumpul, dan pangkal membulat,
4. Bunga keluar dari ketiak daun, bunga dan buahnya menempel pada cabang,
5. Buah kotak, bulat, diameter  $\pm 2$  mm, berwarna hijau keunguan,
6. Biji kecil, keras, berwarna coklat.

(Kartasapoetra, 1996; Soedibyo, 1998; Gusrizal, 2003)



Gambar 2.1 Tanaman Meniran

#### 2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Meniran

Dari hasil riset peneliti India, Brasil, Peru, Jepang, dan Paraguay dilaporkan bahwa meniran mengandung senyawa kelompok lignan seperti phyllantine, hypophyllantine, niranthin, nirtetrakin, nirfilin, filtetralin, lintetralin, isotetralin, filnirurin dan garam kalium (Soedibyo, 1998). Daun mengandung senyawa-senyawa antibakteri seperti phyllantine, hypophyllantine, niranthin, dan nirtetrakin (Gusrizal, 2003).

Disamping itu, meniran juga mengandung senyawa kelompok bioflavonoid seperti rutin, quersetrin, isoquersetrin, nirurin, dan nirutenin. Sedangkan dari kelompok alkaloid ditemukan securinine, norsecurinine, dan phyllanthoside. Tidak ketinggalan juga ditemukan kelompok steroid seperti estradiol dan sitosterol. Selain itu, meniran juga mengandung senyawa golongan minyak atsiri, zat pahit arbutin, glikosida antrakuinon, senyawa golongan fenol, dan tanin (Soedibyo, 1998).

#### 2.1.5 Khasiat Tanaman Meniran

Dalam pengobatan tradisional India (*ayurvedic*) yang telah digunakan selama lebih dari 2000 tahun, meniran secara luas dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit kuning (*jaundice*), diabetes, kencing nanah, gangguan menstruasi, dan gangguan pada kulit seperti bengkak dan gatal-gatal (Gusrizal, 2003). Kandungan aktif tanaman meniran yang ada kaitannya dengan pengobatan penyakit kulit adalah quersetrin, merupakan senyawa flavonoid. Quersetrin bekerja dengan menghambat enzim histidin dekarboksilase sehingga produksi sintesis histamin terhambat. Histamin merupakan mediator penting pada penyakit alergi sehingga meniran akan menghambat reaksi peradangan akibat histamin pada dermatitis alergi (Sampurna, 2005).

Bioflavonoid rutin dan quersetrin dikenal sebagai antikarsinogen yang dapat mencegah terjadinya kanker. Senyawa ini juga membantu meningkatkan ketahanan pembuluh darah perifer (Gusrizal, 2003). Phyllantine dan hypophyllantine dari meniran merupakan komponen utama yang diyakini berperan dalam penurunan gula

darah pada penderita diabetes. Tahun 1984 peneliti Brasil menemukan alkaloid phyllanthoside dari herba meniran dengan aktivitas antispasmodiknya sangat kuat. Laporan lain mengemukakan, meniran juga berperan dalam liver detoxifying (menghilangkan racun) pada penderita liver.

Di Indonesia sendiri telah digunakan secara turun temurun dan diyakini dapat menyembuhkan malaria, sariawan, mencret, sampai nyeri ginjal. Jika dicampur dengan pegagan, meniran bisa digunakan untuk mengobati kencing batu. Sementara di Thailand meniran dimanfaatkan untuk mengobati demam dan sebagai deuretik.

Di India secangkir rebusan daun meniran diminum untuk mengobati diare. Di Amerika Selatan meniran digunakan untuk mengatasi oedema, mengatasi kelebihan asam urat, pengobatan batu ginjal, batu empedu, flu, dan demam. Di samping itu digunakan juga sebagai deuretik dan infeksi saluran kemih (Gusrizal, 2003).

Orang Peru menggunakan meniran untuk menghancurkan dan mengeluarkan batu ginjal dan batu empedu. Ini juga dipercaya dapat merangsang produksi empedu dan meningkatkan fungsi hati serta kandung empedu. Sering juga ditemui rebusan meniran yang dicampur dengan air jeruk dan dipakai sebagai tonikum untuk penderita liver dan diabetes. Seorang dokter Jerman telah menggunakan meniran dalam praktik medisnya di Jerman. Dokter tersebut menceritakan bahwa 94 % pasien batu ginjal dan batu empedu yang datang kepadanya sembuh setelah diterapi dengan produk meniran selama 1-2 minggu (Gusrizal, 2003).

Di Vietnam dan Kamboja, ekstrak meniran digunakan sebagai terapi ajuvan (tambahan) obat-obatan *Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome* (HIV/AIDS). Sebagian digunakan pula untuk terapi tuberkulosis (TB). Di tengah berjangkitnya sindrom pernapasan akut parah atau *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS), ekstrak meniran juga berguna untuk meningkatkan kondisi tubuh (Maat, 2002). Ekstrak ini mampu menghambat proses pengembangbiakan kuman *Mycobacterium tuberculosis* penyebab tuberkulosis. Fakta tersebut terungkap melalui penelitian bersama yang dilakukan oleh Universitas Indonesia dan Sentra

Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional, Departemen Kesehatan (Sampurna, 2005). Selain itu, khasiat meniran untuk terapi tuberkulosis juga sudah diuji lewat studi yang dilakukan oleh dr Zulkifli Amin.

Demikian juga penelitian pemberian ekstrak tanaman meniran sebagai adjuvan pada terapi varisela di Bagian Kulit RSUD Tangerang menunjukkan penyembuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan placebo. Aplikasi meniran begitu luas, terutama untuk penyakit infeksi yang kronis dan pengobatan infeksi viral (Maat, 2002). Beberapa jenis infeksi virus dapat diberikan imunostimulan misalnya morbili, influenza, bronkitis, rhinovirus serta pneumonia (Maat, 2001; Munasir, 2002).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh JH Bloomberg yaitu penerima hadiah nobel karena penemuan virus hepatitis B, menemukan bahwa ternyata meniran dapat mengobati hepatitis B di Madras (Maat, 2002). Untuk penderita hepatitis B, meniran efektif bekerja memblok DNA polimerase, enzim yang dibutuhkan oleh virus hepatitis B untuk berkembang biak (Gusrizal, 2003).

Elva annisa telah melakukan penelitian mengenai efek antibakteri infus herba meniran terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta skrining fitokimia dan diperoleh hasil bahwa infus herba meniran dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Untuk mengobati air seni berdarah meniran dibuat dalam bentuk infus dengan aturan pemakaian diminum 1 kali sehari 100 ml selama 3 hari. Ramuan untuk pengobatan penyakit ini adalah Herba Meniran segar sebanyak 9 tanaman; Rimpang Temulawak sebanyak 3 keping; Daun Blustru segar sebanyak 6 helai; Air sebanyak 110 ml (Soedibyo, 1998).

### 2.1.6 Ekstrak Tanaman Meniran sebagai Imunomodulator

Imunomodulator harus memenuhi syarat sebagai berikut :

1. Dapat memodifikasi mekanisme imun pejamu yang berbeda dengan antibiotika atau kemoterapi lain yang hanya berefek pada mikroorganisme penyebab penyakit.
2. Mempunyai efek samping yang minimal serta mendapatkan efek farmakologi dan klinik yang diharapkan.
3. Bebas dari efek yang berbahaya seperti timbulnya autoimun serta limfoma seperti yang pernah dilaporkan akibat beberapa zat kemoterapi serta *C parvum*.
4. Bebas dari efek sensitisasi akibat zat yang digunakan bersifat alergenik seperti BCG, *C parvum* atau levamisol yang mungkin dapat memberikan reaksi yang tidak diinginkan atau menginduksi terjadinya penyakit kompleks imun.
5. Bebas dari efek inhibisi sistem imun pada pemberian jangka lama atau berulang.
6. Harus ada data yang lengkap mengenai imunofarmakologi zat tersebut, sehingga dapat digunakan dengan indikasi tepat sesuai dengan keadaan klinis dan kondisi pasien.
7. Untuk meneliti efektivitas imunostimulan ini, sebaiknya zat yang digunakan tidak mengandung endotoksin karena endotoksin sendiri bersifat sebagai imunostimulan.

(Munasir, 2002).

Ekstrak tanaman meniran ternyata memenuhi semua syarat di atas sebagai imunostimulan. Imunostimulan ini juga dapat diberikan sebagai ajuvan bersama terapi antimikroba lain.

## 2.2 Imunomodulator/imunostimulator

Pada dasarnya, tubuh memiliki zat yang secara otomatis akan menormalkan sistem imun. Menurut dr. Zakiudin Munasir, Sp.A(K) dari Subbagian Alergi-Imunologi, Bagian Ilmu Kesehatan Anak, FKUI/RSCM, setiap makhluk hidup dibekali suatu sistem kekebalan (imunitas) tubuh. Tingkat kekebalan tubuh ini bervariasi, dari yang sangat sederhana sampai yang kompleks, seperti pada manusia. Jika sistem imun sedang menurun, tubuh dengan sendirinya akan meningkatkan kembali ke keadaan yang seimbang dan sebaliknya. Namun, ada kalanya tubuh tak berhasil menormalkan sistem imunnya sendiri. Akhirnya, dicarilah cara menormalkan sistem imun tubuh dari luar dengan imunomodulator .

Penemuan baru dalam farmakologi adalah pengembangan obat yang memodulasi respons imun daripada menekannya. Dasar pemikiran yang mendasari semua riset ke pengembangan obat ini adalah bahwa obat ini dapat digunakan untuk meningkatkan imunoresponsif pasien yang menderita imunodefisiensi selektif atau generalisata. Selain itu, belakangan ini muncul sindroma imunodefisiensi akuisita (AIDS), yang disebabkan oleh retrovirus RNA (HTLV-III/LAV/ARV) yang meningkatkan minat dalam mengembangkan obat imunomodulasi yang lebih efektif (Katzung, 1989). Akhir-akhir ini, penggunaan imunomodulator banyak dikembangkan dalam peningkatan mekanisme pertahanan tubuh dan juga ajuvan pada terapi penyakit infeksi (Maat, 2001).

Imunomodulator adalah obat yang bekerja dengan cara melakukan modulasi pada sistem imun. Modulasi sistem imun yang diinginkan dapat berupa respons imun spesifik. Misalnya pada pasien yang memerlukan supresi sistem imun seperti pada pasien alergi, autoimun atau transplantasi maupun respons imun yang nonspesifik yaitu pada defisiensi imun secara umum. Fungsi imunomodulator adalah memperbaiki sistem imun yaitu dengan cara stimulasi pada imunodefisiensi (imunostimulan), mengatasi penyakit menahun dan kanker, dan menekan atau menormalkan pada pasien dengan reaksi imun berlebihan (imunosupresan) (Maat, 2001; Munasir, 2002).

Penggunaan imunostimulan pada terapi infeksi pada anak perlu di pertimbangkan mengingat daya tahan tubuh anak terutama usia muda relatif belum baik dibandingkan dengan orang dewasa atau anak yang lebih tua.

### 2.2.1 Bahan Imunomodulator/imunostimulator

Berbagai jenis bahan telah digunakan sebagai imunomodulator pada pengobatan penyakit infeksi, dari sitokin sampai zat biologi aktif dari alam maupun antibiotika. Mekanisme modulasi sistem imun dapat langsung ke sel misalnya sel limfosit T, sel limfosit B atau sel makrofag (*Antigen Presenting Cell (APC)*). Antibiotika dapat mempunyai efek seperti sitokin atau anti sitokin.

Beberapa jenis bahan imunomodulator/imunostimulator :

#### 1. Sitokin

Sitokin yang mempunyai efek utama dalam merangsang proliferasi dan fungsi sel polimorfonuklear (PMN) monosit, dan makrofag adalah *Granulocyte and Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF)*. Inkubasi dengan GM-CSF dapat merangsang produksi metabolit oksigen intermedia serta kapasitas bakterisid terhadap *Staphylococcus aureus* pada sel orang dewasa maupun anak yang menderita infeksi akut (Maat, 2001).

#### 2. Bahan biologi aktif non sitokin

Pertama kali yang menggunakan bahan ini sebagai imunomodulator adalah Freund's & Mc Dermott sekitar 50 tahun yang lalu

Bahan biologi aktif non sitokin yang berfungsi sebagai imunomodulator :

1. Bacillus Calmette Guerin (BCG)
2. Corynebacterium parvum (CP)
3. Lipopolisakarida (LPS)
4. Polisakarida
5. Echinacea purpurea
6. Phyllanthus niruri

Ada dua golongan imunomodulator yaitu imunomodulator biologi dan sintetik. Contoh imunomodulator biologi antara timosin dan interferon. Contoh imunomodulator sintesis antara lain levamisol, isoprinosine serta muramil dipeptidase (Maat, 2001; Munasir, 2002).

## 2.2.2 Imunomodulator Biologi

Beberapa contoh golongan imunomodulator biologi :

### 1. Timosin

Hormon protein ini (disintesis komponen epiteloid timus) tampak membawa spesifitas sel T untuk sel induk limfoid yang netral. Kadar timosin yang tinggi selama masa kanak-kanak dan awal masa dewasa adalah normal, kemudian mulai turun dalam dasawarsa ketiga sampai keempat serta rendah pada orang tua. Kadar serum juga rendah pada sindroma defisiensi sel T DiGeorge. Terapi limfosit in vitro dengan timosin meningkatkan jumlah sel yang memanifestasikan fungsi sel T. Secara mekanistik, timosin dianggap menginduksi maturasi pra sel T (Katzung, 1989).

### 2. Interferon

Interferon pertama disebutkan sebagai protein antivirus yang dihasilkan sel hospes. Kemudian, interferon ditemukan mempunyai aktivitas anti-proliferasi dan mengubah fungsi sel imun lain (misal : makrofag dan sel pembunuh alamiah [NK]). Interferon mungkin bermanfaat dalam terapi infeksi tertentu (misal : hepatitis) maupun pada sejumlah penyakit autoimun (misal : Arthritis reumatoid) dan bentuk kanker tertentu seperti myeloma dan limfoma yang timbul dari sel B. Interferon mempunyai khasiat dapat menghambat replikasi virus DNA dan RNA sel ganas serta dapat memodulasi sistem imun.

Interleukin-1 (IL-1) telah dikenal sebagai "*pirogen endogen*" dan interleukin-2 (IL-2) sebagai hormon yang merangsang proliferasi limfosit T maupun memperlihatkan berbagai proses imunomodulasi dan imunoregulasi (Katzung, 1989).

### 2.2.3 Imunomodulator sintetis

Akhir-akhir ini telah banyak dikembangkan penelitian mengenai zat kimia sintetis yang mempunyai efek sebagai imunomodulator seperti zat biologi aktif. Yang termasuk imunomodulator sintetis antara lain levamisol, isoprinosine, muramil dipeptidase (MDP) serta bahan lain yang telah digunakan secara eksperimental di klinik yaitu aximexon dan ciamexon, bestatin dan tuftsin (Maat, 2001).

Levamisol pertama disintesis untuk terapi infeksi parasit. Penelitian belakangan ini menggambarkan bahwa obat ini dapat meningkatkan hipersensitivitas atau imunitas melalui sel T pada manusia. Pada imunodefisiensi yang menyertai penyakit Hodgkin, obat ini meningkatkan jumlah sel limfoid pembentuk roset R (sel T) *in vitro*. Belakangan ini, inosipleks (isoprinosine) ditemukan mempunyai aktivitas imunomodulasi serta meningkatkan sitotoksitas sel pembunuh alamiah maupun aktivitas fungsional monosit dan sel T (Katzung, 1989).

## 2.3 Limfosit

### 2.3.1 Morfologi Limfosit

Limfosit dihasilkan oleh organ limfoid yaitu kelenjar limfa yang merupakan fungsi utama dari kelenjar tersebut. Kelenjar ini juga berperan dalam pembentukan zat anti dan berhubungan dengan respons imunitas bermedia sel terhadap antigen regional. (Guyton dan Hall, 1997). Limfosit adalah leukosit mononuklear yang berdiameter antara 7-20  $\mu$  dalam darah perifer, yang intinya berwarna gelap yang mengandung kromatin tebal dan sitoplasma yang berwarna biru pucat (Dorland, 1996). Jumlah limfosit sekitar 1000-3000/ $\text{mm}^3$  darah atau 20-30% dari seluruh leukosit (Subowo, 1992). Limfosit berbentuk bulat atau oval yang mengandung sedikit granula. Bentuk kromatin inti menyerupai pengelompokan jala-jala yang mempunyai hubungan ke dalam.

Limfosit memiliki rentang usia sekitar 100-300 hari. Selama periode ini, sebagian besar dari sel-sel ini secara kontinue beredar di antara jaringan limfoid, limfe, dan darah dengan menghabiskan waktu beberapa jam saja di dalam darah.

Dengan demikian, hanya sebagian kecil limfosit total yang transit di darah setiap waktu tertentu (Sherwood, 1994).



Gambar 2.2 Limfosit darah manusia  
Sumber : Histologi dasar (Junqueira, 1997)

### 2.3.2 Populasi Limfosit

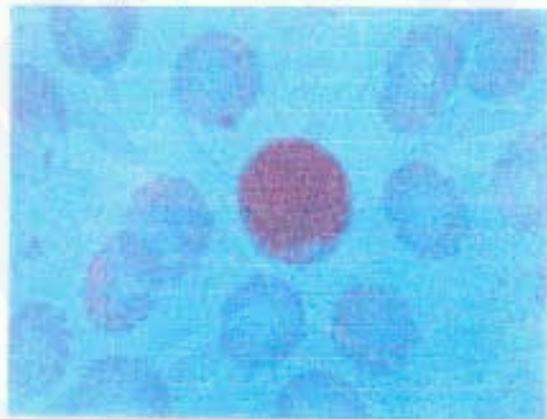
Populasi limfosit bersifat heterogen. Limfosit terdiri atas satu keluarga sel-sel berbentuk sferis dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit dapat diklasifikasikan beberapa kelompok berdasarkan molekul-molekul permukaan yang berbeda (penanda), yang dapat dikenali dengan cara imunositokimia. Berbeda dengan sel leukosit yang lain, limfosit setelah dilepaskan dari sumsum tulang belum dapat berfungsi secara penuh karena harus mengalami diferensiasi lebih lanjut. Apabila sudah masak sehingga mampu berperan dalam respons imunologik, maka sel tersebut dinamakan sel imunokompeten (Subowo, 1992).

Melalui mekanisme yang tidak diketahui, jumlah limfosit dalam darah sering meningkat berkaitan dengan infeksi kronik. Pada mononukleosis infeksiosa, jumlah limfosit dalam darah tidak saja meningkat tetapi banyak limfosit yang strukturnya tampak atipikal (Sherwood, 1994). Penyakit ini disebabkan oleh virus Epstein-Barr, ditandai oleh rasa lelah yang hebat, nyeri tenggorokan ringan, dan demam derajat rendah. Pemulihan sempurna biasanya memerlukan waktu sebulan atau lebih (Sherwood, 1994).

Limfosit mempunyai ukuran yang berbeda-beda dari yang kecil sampai yang besar seukuran granulosit (Price dan Wilson, 1995; Subowo, 1992). Berikut ini adalah klasifikasi limfosit berdasarkan ukuran sebagai berikut :

#### 1. Limfosit Kecil

Limfosit kecil mendominasi dalam darah kira-kira berjumlah 92% (Subowo, 1992). Mempunyai garis tengah 6-8  $\mu\text{m}$ ; memiliki inti sferis, besar, kadang berlekuk serta hampir mengisi seluruh sel. Limfosit ini memiliki pola kromatin padat dan tampak sebagai gumpalan kasar sehingga inti terlihat gelap pada sajian biasa. Sitoplasma sangat sedikit dan pada hapusan darah tampak sebagai tepian tipis di sekitar inti. Limfosit ini hidup bersifat motil dan dapat menyusup diantara sel endotel pembuluh darah. Limfosit kecil ini juga mempunyai kemampuan untuk bermigrasi melalui membran epitel basal (Junqueira, 1997).



Gambar 2.3 Limfosit kecil (*Wright's*) Selnya tidak lebih besar dari eritrosit. Inti praktis mengisi penuh selnya. Sumber : Atlas Berwana Histologi Edisi ke-2 (Craigmyle, 1987)

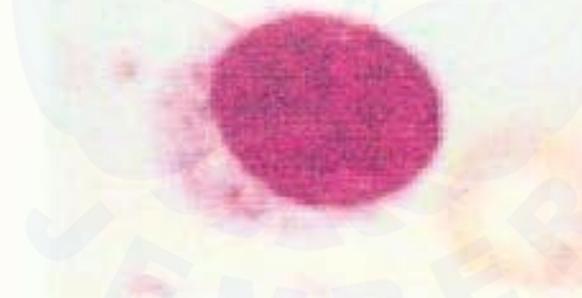
Berdasarkan sifat-sifat fungsionalnya, limfosit kecil digolongkan dalam dua kelompok yaitu limfosit B dan limfosit T (Junqueira, 1997; Cornack, 1994) sebagai berikut :

##### a. Limfosit T

Sel T terbentuk dalam timus (Bevelander, 1979). Sel T masak di dalam organ limfoid primer atau organ limfoid sentral dan mempunyai fungsi membawa reseptor

sel T permukaan. Limfosit T dikhususkan untuk mengenali antigen yang melekat pada permukaan sel lain. 4 jenis utama limfosit T ialah sel sitotoksik (Sel NK {*Natural Killer Cell*}), sel T penolong (Sel  $T_h$  {*Helper T Cell*}), sel supresor (Sel  $T_s$  {*Suppressor T Cell*}) dan sel memori (Junqueira, 1997). Dalam darah, kebanyakan limfosit ( $\pm 80\%$ ) adalah sel T dengan umur sangat panjang (Burgess, 1995).

Limfosit T mengatur aktifitas sel T lain baik secara positif (sel T penolong), maupun secara negatif (sel T Supresor). Limfosit T berpartisipasi dalam proses inflamasi destruktif pada penyakit periodontal. Interaksi antara  $T_h$  dan  $T_s$  penting untuk imunologi diferensiasi sel T maupun B (Mustaqimah, 2000). Sel T menghasilkan beberapa faktor (*Limfokin*) yang mempengaruhi kegiatan makrofag, seperti pergerakan makrofag menuju tempat inflamasi. Beberapa limfosit T (*sel sitotoksik*) menghasilkan substansi yang mematikan sel-sel lain, termasuk sel-sel tumor, sel yang terinfeksi virus, dan cangkakan asing (Junqueira, 1997).



Gambar 2.4 Limfosit T dengan azurgranulasi (*Pappenheim*). Sumber : Atlas Hematologi (Heckner, 1999)

#### b. Limfosit B

Sel B berasal dari sumsum tulang (Bevelander, 1979). Persentase lebih kecil dari limfosit yang bersirkulasi ( $\pm 15\%$ ) adalah limfosit B yang menghasilkan imunoglobulin. Limfosit ini mempunyai kemampuan membelah diri beberapa kali dan berdiferensiasi menjadi sel plasma dalam jaringan (Junqueira, 1997).

Sel B membelah melalui banyak siklus dan menjadi klon-klon dengan kekhasan pengikatan yang berbeda-beda dengan ciri oleh adanya molekul imunoglobulin terikat pada membran permukaan yang bertindak sebagai reseptor sangat spesifik (Burgess, 1995).

## 2. Limfosit sedang

Limfosit sedang mempunyai ukuran 6-8  $\mu$ , nukleus mengandung sedikit kromatin, yang tersebar sedikit padat dan hanya pada sebagian membran inti sel. Sitoplasma juga mengandung banyak ribosom dan sedikit RE, kebanyakan pada membran inti (Lee, 1998).



Gambar 2.5 Limfosit sedang (*Wright's*) selnya sedikit lebih besar dari eritrosit dan sitoplasmanya lebih banyak dari limfosit kecil. Sumber : Atlas Berwarna Histologi Edisi ke-2 (Craigmyle, 1987).

## 3. Limfosit besar

Limfosit ini memiliki inti yang sedikit lebih besar dari inti limfosit kecil. Intinya bulat atau berlekuk kecil pada salah satu sisinya (Cornack, 1994). Limfosit besar memiliki sitoplasma yang lebih banyak dan nukleusnya mungkin irreguler. Limfosit yang lebih besar diduga adalah sel yang telah diaktifkan oleh antigen spesifik. Sel ini akan berkembang menjadi limfosit T atau B efektif.



Gambar 2.6 Limfosit besar dengan granulasi Azur, limfosit granula besar (Large Granula Lymphocyte=LGL), "Natural Killer Cell" (NK-Cell) (Pembesaran 1500 x).  
Sumber : Atlas Hematologi (Heckner,1999)

### 2.3.3 Limfosit dan Proses Inflamasi

Pada peradangan, sel limfosit muncul sebagai antigen yaitu zat pada kondisi yang tepat, menginduksi suatu respons imunospesifik dan bereaksi dengan produk-produk respons tersebut (Dorland, 1996). Limfosit dapat menjadi sensitif selama stadium seluler lanjut. Sensitifitas ini dapat muncul pada saat plasma sel memproduksi antibodi atau pada saat limfosit T memproduksi limfokin untuk memudahkan proses peradangan (Yuwono, 2001).

Limfosit umumnya terdapat pada eksudat dalam jumlah yang sangat kecil untuk waktu yang cukup lama yaitu sampai reaksi peradangan menjadi kronik (Price dan Wilson, 1995). Pada proses peradangan, limfosit berfungsi memberikan respons imunologik untuk melawan agen asing dengan fenomena humoral dan seluler spesifik (Bellanti, 1993). Respons seluler dari limfosit tidak hanya berfungsi untuk proteksi terhadap infeksi tetapi juga merupakan faktor yang penting dalam proses penyembuhan (Dewanti dan Elyana, 2003).

#### 2.3.4 Peranan Limfosit

Limfosit memiliki peranan fungsional yang berbeda, yang semuanya berhubungan dengan reaksi imunitas dalam bertahan terhadap serangan mikroorganisme, makromolekul asing dan sel kanker. Limfosit T secara langsung menghancurkan sel-sel sasaran spesifik, suatu proses yang dikenal sebagai respons imun yang diperantarai sel hidup (respons imun seluler). Sel yang menjadi sasaran limfosit T mencakup sel-sel tubuh yang telah dimasuki oleh virus dan sel kanker (Sherwood, 1994).

Sedangkan, limfosit B menghasilkan imunoglobulin, yang dikenal sebagai respons imun humoral. Dalam perkembangannya, limfosit B akan berkembang menjadi sel plasma yang akan menghasilkan antibodi. Baik limfosit B maupun T juga memperlihatkan peristiwa memori imunologik. Setiap limfosit disiapkan untuk memberikan respon hanya terhadap satu antigen saja. Beberapa sel yang dihasilkan itu berkembang menjadi *sel efektor* (Junqueira, 1997).

Empat jenis utama limfosit T ialah sel sitotoksik, sel penolong, sel supresor, dan sel memori. Sel NK (*Natural Killer Cell*) berperan dalam menghancurkan sel-sel cangkakan dan sel asing lainnya, demikian juga dengan sel-sel yang terinfeksi dengan virus. Sel T penolong (*Helper T cell*) berperan dalam mensekresikan faktor-faktor yang merangsang limfosit T dan B sebagai respons terhadap antigen tertentu. Sel T penekan (*Suppressor T Cell*) berperan dalam menekan respons terhadap antigen asing (Junqueira, 1997).

## 2.4 Stres

### 2.4.1 Definisi stres

Selye mendefinisikan stres sebagai tanggapan yang non-spesifik (tidak khas) daripada tubuh terhadap pembebanan apapun atas dirinya (tubuh manusia) (Ibrahim, 1996). Dapat dikatakan stres merupakan salah satu obyek atau faktor penyebab yang dapat memicu timbulnya infeksi (Sulistiyani, 2003). Stres adalah penjumlahan reaksi-reaksi biologis terhadap berbagai stimulasi yang merugikan fisik, mental atau

emosional, internal atau eksternal yang cenderung mengganggu homeostasis organisme tersebut; seandainya reaksi-reaksi kompensasinya tidak adekuat atau tidak tepat, stres dapat menimbulkan gangguan. Istilah ini digunakan untuk menunjuk pada rangsangan-rangsangan yang mendatangkan reaksi (Dorland, 1996).

Kadangkala stres yang sangat berat menimbulkan sejumlah gejala yang lebih hebat, yaitu hilangnya kemampuan menilai realitas. Bentuk gangguan sedemikian ini dinyatakan sebagai gangguan psikotik. Stres dapat pula menimbulkan keluhan fisik, atau kecemasan tidak rasional terhadap penyakit fisiknya. Selain itu stres dapat menimbulkan depresi, iritabilitas (gampang tersinggung), bahkan pada anak-anak atau remaja dapat menimbulkan gangguan kesulitan belajar (Ibrahim, 1996).

Jenis-jenis stresor yang dapat menimbulkan respons stres yaitu fisik (trauma, pembedahan, panas atau dingin hebat); kimia (penurunan pasokan  $O_2$ , ketidakseimbangan asam-basa); fisiologis (olahraga berat, syok perdarahan, nyeri); psikologis atau emosi (rasa cemas, ketakutan, kesedihan) dan sosial (konflik pribadi, perubahan gaya hidup) (Sherwood, 2001). Menurut Sumintarti (1997) dalam Asriar (2001) juga menyatakan bahwa pemberian stres listrik dengan "*electrical foot shock*" menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah.

Stres adalah ketegangan dalam berbagai bentuk reaksinya. Reaksi stres, merupakan respon seseorang, dalam bentuk respon psikologik, taali atau biokimiawi sehingga cenderung mengganggu atau menghambat fungsi kejiwaan dan badan. Terjadinya reaksi stres tergantung pada tanggapan individual yang sifatnya subyektif. Stres tidak selamanya merupakan sesuatu yang patologik. Sampai pada suatu tingkatan tertentu, stres adalah sesuatu yang dibutuhkan oleh setiap individu. Dengan adanya stres pada taraf yang wajar, seseorang mampu mempertahankan kewaspadaan dan kedisiplinan. Stres yang wajar akan menghilang setelah situasi yang menimbulkan stres hilang (Ibrahim, 1992).

#### 2.4.2 Mekanisme Stres dalam Hubungannya dengan Sistem Imun

Susunan saraf simpatis merupakan suatu pengatur penting bagi aktivitas organ seperti jantung dan pembuluh darah tepi, terutama dalam respons terhadap stres. Efek akhir rangsangan simpatis melalui pelepasan norepinefrin dari ujung saraf yang bertindak untuk mengaktifasi reseptor adrenergik pada tempat postsinap. Juga dalam respons terhadap stres, medula suprarenalis melepaskan norepinefrin, yang ditranspor di dalam darah ke organ sasaran (Katzung, 1989).

Menurut Liben (1999), mekanisme stres terhadap imun merupakan hal yang sangat kompleks sehingga masih dibutuhkan banyak penelitian yang intensif. Mooduto (2003) menjelaskan, respons imun merupakan suatu sistem yang terjadi supaya tubuh dapat mempertahankan keseimbangan antara lingkungan luar dan lingkungan dalam. Respons imun dapat pula diartikan dengan interaksi seluler yang bersifat kompleks yang terjadi karena adanya rangsangan yang bertindak sebagai imunogen dan merupakan usaha tubuh untuk mempertahankan kondisi homeostatis. Tubuh melakukan pertahanan diri sendiri dengan mengeliminasi benda asing dengan cara memproduksi homeostasis ini. Sistem imun mempunyai tiga tanda penting yaitu memori adalah kemampuannya untuk mengenali benda asing; spesifik adalah kemampuan untuk bereaksi secara spesifik; toleransi adalah kemampuan untuk tidak melawan dirinya sendiri. Pada binatang tingkat tinggi bentuk imunitas meliputi ketiga tanda tersebut. Imunitas natural juga melibatkan pertahanan fisik, kulit dan mukosa. Kebanyakan organisme uniseluler tubuhnya akan memfagosit, sedangkan multiseluler mempunyai sel sendiri yang spesifik untuk menghilangkan substansi yang masuk pada permukaan barier (Tim Biologi Oral, 2005).

Sindroma stres timbul sebagai respons terhadap semua stimulus yang mengakibatkan stres. Respons tubuh terhadap stimulus apapun mengakibatkan stres terjadi dalam tiga tahap yang dinamai General Adaptasi Syndrome (GAS) atau Sindrom Adaptasi Umum (SAU) atau Sindroma Stres Biologis :

#### Tahap 1 : Reaksi Alarm (Peringatan)

Efek aktivasi sistem saraf autonom dan mempunyai karakteristik adanya penurunan resistensi tubuh terhadap stres. Medula adrenal sebaliknya mensekresi adrenalin dan noradrenalin. Hormon adenokortikotropik (ACTH) dihasilkan oleh glandula hipofisis, yang menstimulasi korteks adrenal untuk melepaskan glukokortikoid. Jika stres awal terlalu berat, organisme dapat mati pada tahap ini.

#### Tahap 2 : Reaksi Perlawanan (Resistensi)

Hipofisis terus mengeluarkan ACTH, yang kemudian merangsang korteks adrenal untuk mensekresi glukokortikoid, yang penting untuk resistensi terhadap stres karena glukokortikoid merangsang konversi lemak dan protein menjadi glukosa yang menghasilkan energi untuk mengatasi stres. Selama tahap ini, resistensi terhadap stres yang khusus meningkat dan kemudian respons yang sifatnya sama akan hilang. Banyak penyakit yang berhubungan dengan stres timbul pada tahap resistensi. Beberapa mungkin berhubungan dengan efek dari hormon glukokortikoid yang menghambat pembentukan antibodi, dan menurunkan pembentukan sel darah putih. Bagian lain dari tahap resistensi GAS adalah penekanan dari banyak fungsi tubuh yang berhubungan dengan perilaku seksual dan reproduksi. Pada pria, produksi sperma menurun, karena penurunan sekresi hormon seksual pria; pada wanita, siklus menstruasi terganggu atau tertekan.

#### Tahap 3 : Reaksi Kelelahan

Jika stres yang khusus tersebut terus berlanjut, kemampuan tubuh untuk menahannya dan untuk menghindari stres yang lain pada akhirnya akan gagal (Selye, 1982).

#### 2.4.3 Electrical Foot Shock

Alat ini merupakan alat yang digunakan untuk menimbulkan stres pada hewan coba. Stres tersebut berupa stresor rasa sakit yaitu dengan memberikan renjatan listrik pada tapak kaki hewan coba. Alat ini dipilih karena intensitas dapat terukur dengan cepat. Perjalanan arus listrik dari kaki sampai ke seluruh tubuh termasuk otak dan

mukosal usus berjalan cepat dan pemulihan setelah renjatan tidak ada efek samping (Asnar, 2001).

#### 2.4.3.1 Stresor Renjatan listrik

Menurut Kort-Basso dan Kaplan (dalam Asnar, 2001), renjatan listrik akan menimbulkan stres pada individu. Renjatan listrik mempengaruhi fungsi sistem imun. Selain dapat melalui jalur humoral dan cairan tubuh juga dapat melalui saraf. Cairan tubuh dapat meneruskan sinyal listrik karena cairan tubuh merupakan volume konduktor yang baik (Guyton dan Saputra, 2001). Arus listrik ini juga dapat memodulasi fungsi sel imunokompeten di mukosa usus sehingga menyebabkan modulasi respon imun mukosal (Lindstrom dan Ismail, 2001).

Stresor renjatan listrik kemungkinan dapat dirambatkan melalui sistem saraf autonom yaitu parasimpatetik dan simpatetik. Saraf simpatetik mensekresi katekolamin norepineprin. Pada kondisi stres terjadi peningkatan aktifitas parasimpatetik yang akan memicu sekresi asetilkolin, musin, epineprin, norepineprin dan katekolamin (Bear, Guyton, Pothonlakis, 2001). Dibawah pengaruh epineprin dan sistem simpatis, kecepatan dan kekuatan kontraksi jantung meningkat, sehingga meningkatkan curah jantung, dan efek vasokonstriksi (Sherwood, 2001). Epineprin berperan penting dalam respons terhadap stres, pengaturan tekanan darah arteri, dan kontrol metabolisme bahan bakar.

Penelitian terhadap hewan coba yang dilakukan oleh Achmad (1996) dalam Asnar (2001) membuktikan bahwa peningkatan kadar kortisol akibat pemberian stres pada tikus jantan dapat mempengaruhi respons imun dengan menurunkan proliferasi limfosit B. Penelitian Sumintarti (1997) mengatakan bahwa pemberian stres listrik dengan "*Electrical Foot shock*" menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah, antara lain granulosit, limfosit T, limfosit B, komplemen IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ , dan IFN- $\alpha$  (Asnar, 2001).

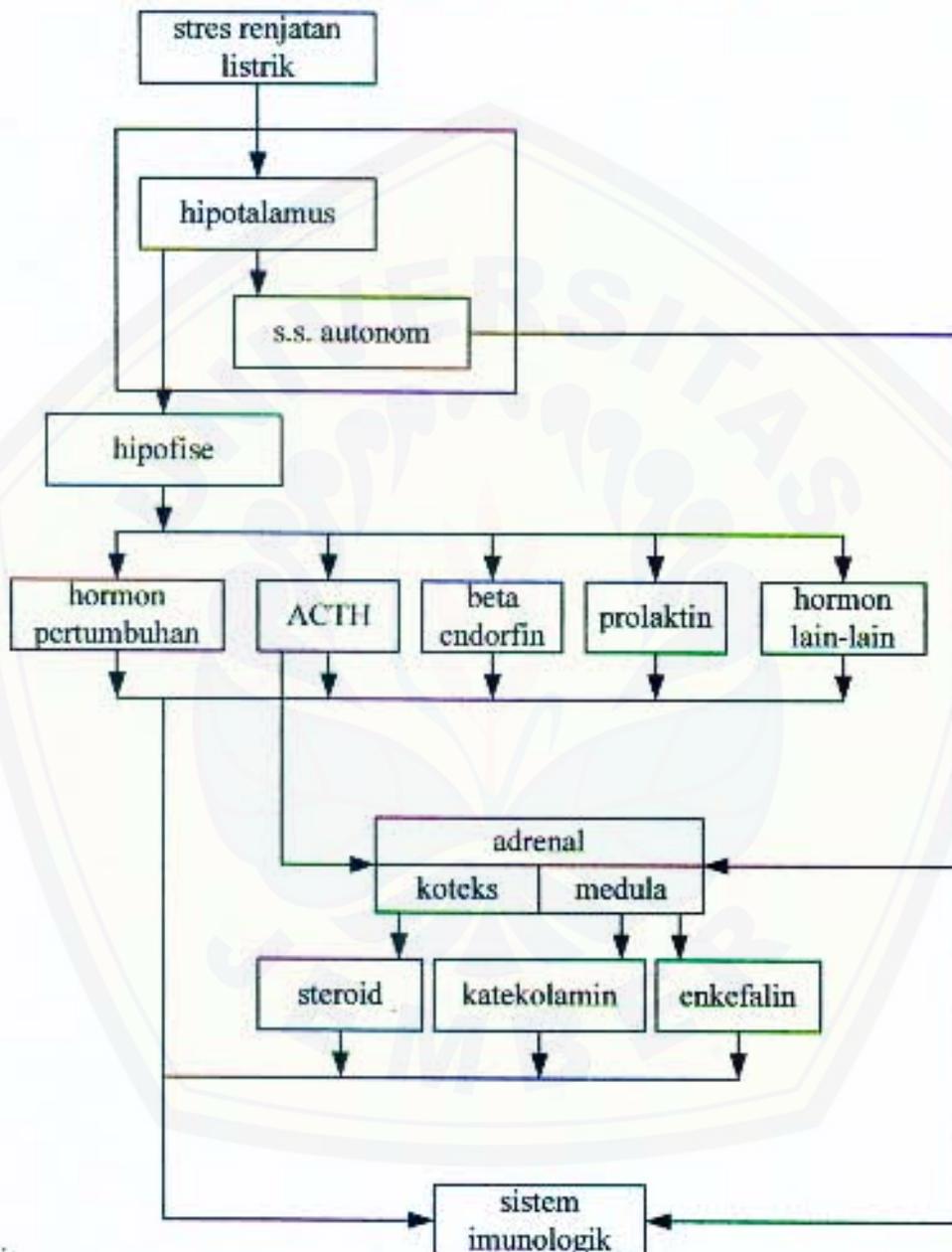
Selain itu, penelitian Kiftiyah (2005) tentang pengaruh stresor terhadap jumlah limfosit darah tepi juga membuktikan bahwa kondisi stres dapat menurunkan

respons imun yang ditandai dengan adanya penurunan jumlah limfosit. Hal ini dikarenakan pada kondisi stres akibat stresor renjatan listrik dapat memicu sekresi glukokortikoid, yang selanjutnya menekan jumlah limfosit T serta mengganggu maturasi limfosit B untuk menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi. Perubahan ini selain menurunkan respons imun juga akan memicu proses imunopatologis yang merugikan tubuh. Hal ini juga dikarenakan glukokortikoid menekan respons imunitas dengan mengurangi jumlah limfosit yang bersirkulasi. Pengurangan ini adalah hasil dari peningkatan destruksi dan penghambatan aktivitas mitosis dalam organ-organ pembentuk limfosit (Junqueira, 1997).



## 2.4.3.2 Jalur Stresor Renjatan Listrik

Secara umum uraian di atas dapat dibagangkan sebagai berikut



Gambar 2.7 Jalur Stresor Renjatan Listrik

Gambar menunjukkan stresor renjatan listrik dapat mempengaruhi fungsi sistem imun melalui jalur humoral dan sistem saraf autonom (Mardjono, 1994).

## 2.4.4 Hubungan Stres, Jumlah Limfosit, dan Ekstrak Tanaman Meniran

### 2.4.4.1 Hubungan Stres dengan Sekresi Kortisol

Guyton (1997) menjelaskan, hampir semua jenis stresor, apakah bersifat fisik atau neurogenik akan menyebabkan peningkatan sekresi ACTH. Beberapa jenis stresor yang meningkatkan pelepasan kortisol sebagai berikut: (1) hampir semua jenis trauma, (2) infeksi, (3) kepanasan atau kedinginan yang hebat, (4) penyuntikan norepineprin dan obat-obat simpatomimetik lainnya, (5) pembedahan, (6) penyuntikan bahan yang bersifat nekrolisis dibawah kulit, (7) mengekang seekor binatang sehingga tidak dapat bergerak, (8) hampir setiap penyakit yang menyebabkan kematian.

Menurut Sulistyani (2003), walaupun stresornya berbeda-beda, keadaan stres selalu ditandai dengan meningkatnya sekresi suatu molekul sinyal *Corticotropin Releasing Faktor* (CRF), suatu senyawa yang sekaligus berfungsi sebagai neurotransmitter dan sebagai hormon (neurohormon). Hantaran sinyal oleh stresor mengaktivasi sistem saraf simpatik dan menghasilkan gejala seperti peningkatan tekanan darah, pernafasan dan detak jantung. Selain itu hantaran sinyal dapat pula terjadi melalui apa yang disebut poros hipotalamus-hipofisis-adrenal (Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis, HPA axis). CRF akan memasuki peredaran hipotalamus-hipofisis (suatu sistem pembuluh darah vena yang menghubungkan hipotalamus dan hipofisis). Melalui peredaran darah, CRF akan mencapai hipofisis dan pengikatan CRF pada reseptor sel ini akan memicu sintesis protein *pro-opiomelanocortin* (POMC). Pengolahan pasca translasi POMC akan menghasilkan sejumlah polipeptida antara lain *adenocorticotropic stimulating hormon* (ACTH). ACTH melalui peredaran darah akan mencapai kelenjar adrenal dan memicu sekresi hormon kortikosteroid oleh sel korteks adrenal. Selanjutnya hormon tersebut dapat menurunkan regulasi respon imun.

Pengeluaran ACTH dari hipofisis anterior merangsang korteks adrenal untuk mengeluarkan kortisol (Putra, 1993). Dalam hal ini kortisol adalah hormon yang paling penting. Efek yang dihasilkan adalah anti inflamasi, penekanan hormon

kortikotropin, efek katabolik protein serta aktivitas penimbunan karbohidrat. Kortisol banyak dimanfaatkan dalam pengobatan sebagai efek anti inflamasi. Pemakaian obat ini secara sistemik ternyata menghasilkan efek anti inflamasi yang kuat, bahkan ternyata dapat menekan proses imunologi tubuh (Harijanti, 2003).

#### 2.4.4.2 Hubungan Kortisol dengan Jumlah Limfosit

Kortisol dan derivat sintetikya tetapi bukan kortikosteron, menekan pembentukan antibodi dan respon peradangan serta menekan jumlah eosinofil dan limfosit yang bersirkulasi (Baron, 1995).

Peningkatan kortisol akan menghasilkan perubahan-perubahan seri yang kompleks. Mekanisme molekulernya sebagai berikut: kortisol masuk ke dalam sel target dan berikatan dengan reseptor glukokortikoid dalam sitoplasma kemudian ditransfer ke nukleus. *Steroid-reseptor complex* mempunyai afinitas yang tinggi pada interfase kromosom nukleus dan berikatan dengan DNA kromosom. Dengan adanya triger pada transkripsi DNA mempengaruhi mRNA sehingga terjadi sintesa protein baru. Pada membran phospholipid yang melepaskan enzim *phospholipase-A<sub>2</sub>*, akan terbentuk protein yang disebut sebagai *lipomodulin*, merupakan glikoprotein yang menghambat enzim *phospholipase-A<sub>2</sub>*, selanjutnya akan menghambat pembentukan *prostaglandin*, *lipokortin*, *leukotrien*, dan *platelet activating factor* (Harijanti, 2003).

Stres dan CRH mempengaruhi ekspresi TH-1 dan TH-2 dengan merangsang sekresi glukokortikoid dan katekolamin serta mempengaruhi produksi sitokin. Glukokortikoid menghambat IL-2, IFN- $\gamma$ , dan IL-12 (Webster, 1998). Glukokortikoid juga menekan respons imunitas dengan mengurangi jumlah limfosit yang bersirkulasi. Pengurangan ini adalah hasil dari peningkatan destruksi dan penghambatan aktivitas mitosis dalam organ-organ pembentuk limfosit (Junqueira, 1997).

Hal ini sesuai dengan penelitian Wijaya (2005) tentang pengaruh stresor terhadap hitung jenis leukosit darah tepi. Penelitian tersebut membuktikan bahwa

kondisi stres dapat menurunkan respons imun yang ditandai dengan penurunan jumlah limfosit. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan kortisol akibat stresor renjatan listrik sehingga meningkatkan destruksi jaringan yang mengakibatkan aktivitas mitosis limfosit menurun, produksi IL-2 menurun yang pada akhirnya terjadi penurunan proliferasi limfosit.

#### 2.4.4.3 Hubungan Ekstrak Tanaman Meniran dengan Jumlah Limfosit

Ekstrak tanaman meniran diduga merupakan suatu imunomodulator/imunostimulator yaitu obat yang mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh yang sangat bermanfaat sekali untuk penderita penyakit-penyakit infeksi (Gusrizal, 2003). Ekstrak ini berkhasiat menjaga dan menguatkan sistem imun tubuh agar sistem kekebalan tubuh dapat bekerja optimal sehingga tidak mudah sakit dan dapat mempercepat masa penyembuhan (Soetikno, 2005). Ekstrak ini mengandung flavonoid yang menempel ke sel imun dan memberikan sinyal intraseluler atau rangsangan untuk mengaktifkan kerja sel imun lebih baik (Ma'at, 2002).

Ekstrak tanaman meniran memiliki aktivitas imunostimulan pada hewan percobaan maupun pasien defisiensi imun. Pemberian peroral ekstrak tanaman meniran dapat meningkatkan aktivitas dan fungsi beberapa komponen sistem imun baik yang tergolong dalam imunitas humoral maupun selular diantaranya dalam produksi IFN- $\gamma$  (Interferon-gamma) dan TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor-Alfa) (Munasir, 2002).

Efek ekstrak ini terhadap respons imun non spesifik berupa peningkatan fagositosis dan kemotaksis makrofag, kemotaksis neutrofil, sitotoksitas sel NK serta aktivitas hemolisis komplemen, meningkatkan proliferasi sel limfosit T, meningkatkan sekresi TNF $\alpha$  dan IL-4 serta menurunkan sekresi IL-2 dan IL-10 sedangkan terhadap imunitas humoral, ekstrak ini dapat meningkatkan produksi IgM serta IgG (Munasir, 2002).

## 2.5 Tikus Wistar Jantan

Tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan pendapat Baker dkk (1980) bahwa tikus telah digunakan secara ekstensif sebagai hewan coba untuk mempelajari biologi dan patologi dari jaringan rongga mulut. Spesies ini telah berguna dalam penelitian kedokteran gigi untuk menjelaskan informasi biologi yang berharga untuk membuktikan pengertian dari mekanisme dasar proses penyakit. Disamping itu juga berfungsi sebagai fasilitas untuk eksperimen secara klinis dan epidemiologi yang dimaksud untuk memberikan informasi yang dapat diaplikasikan secara langsung pada manusia. Tikus putih pada umumnya tenang dan mudah ditangani. Tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit, dan kecenderungan untuk berkumpul bersama sesamanya tidak begitu besar. Aktivitasnya tidak demikian terganggu dengan adanya manusia disekitarnya. Suhu tubuh normal  $37,5^{\circ}\text{C}$ . Laju respirasi normal 210 tiap menit. (Wattimena, 1993).

Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan karena memiliki beberapa keuntungan antara lain, tikus termasuk hewan golongan omnivora yang memiliki alat pencernaan dan kebutuhan nutrisi hampir sama dengan manusia, memiliki siklus hidup relatif panjang, pemeliharaannya cukup mudah dan dapat mewakili mamalia termasuk manusia (Baker, 1980)

## 2.6 Hipotesa

Berdasarkan uraian di atas, dapat ditarik suatu hipotesa sebagai berikut yaitu terdapat perbedaan jumlah limfosit darah tepi tikus wistar jantan yang diberikan ekstrak tanaman McNiran (*Phyllanthus niruri*) dan dipapar stresor rasa sakit dibandingkan dengan yang hanya dipapar stresor rasa sakit berupa renjatan listrik.



### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian

##### 3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian adalah rancang post-test dengan kelompok kontrol (*The Post Test Only Control Group Design*) (Notoatmojo, 2002).

##### 3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan 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 Mei 2006.

#### 3.2 Identifikasi Variabel Penelitian

##### 3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini :

- a. Ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*).
- b. Stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dengan menggunakan alat yang diadaptasikan dari "*Electrical foot shock*".

##### 3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah limfosit.

### 3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini :

- a. Makanan standar tikus wistar jantan (Lampiran C)
- b. Minuman tikus wistar jantan
- c. Cara pemeliharaan
- d. Teknik pemeriksaan
- e. Dosis dan voltage pemberian "*Electrical foot shock*"
- f. Dosis dan cara pemberian ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*)

### 3.3 Definisi Operasional Variabel

#### 1. Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*)

Ekstrak tanaman meniran dalam bentuk sedlaan jadi yang diproduksi oleh PT Dexa Medika Jakarta.

#### 2. Jumlah Limfosit

Jumlah limfosit dihitung per  $\text{mm}^3$  dengan cara mengalikan hitung jenis fragmen limfosit dengan jumlah leukosit total.

#### 3. Stresor rasa sakit

Stresor berupa renjatan listrik yang diberikan dengan menggunakan alat yang diadaptasikan dari "*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 kuningan untuk mengalirkan arus listrik. Kandang perlakuan berukuran 41 x 32 x 11 cm. Arus listrik dialirkan dengan tegangan 25 V, dan frekuensi 60 Hz (Asnar, 2001).

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Populasi

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

#### 3.4.2 Sampel

##### a. Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel dengan menggunakan *Simple Random Sampling*.

##### b. Kriteria Sampel

Kriteria sampel yang digunakan :

- a. Tikus wistar jantan
- b. Berat 200-250 gram
- c. Berusia 3-4 bulan

#### 3.4.3 Besar Sampel

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

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

Keterangan :

n : besar sampel minimal

$\sigma_p^2$  : diasumsikan  $\sigma_p^2 = 2\delta^2$

$\alpha$  : 0,025

$\beta$  : 0,20

Berdasarkan tabel diperoleh :

$Z\alpha$  : 1,96

$Z\beta$  : 0,85

Maka hasil penghitungan besar sampel adalah sebagai berikut :

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

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

$$n = 7,896$$

$$n = 8$$

Berdasarkan perhitungan rumus besar sampel di atas terdapat pada lampiran 1, diperoleh besar sampel minimal 8 (Steel and Torrie, 1995).

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat-Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini :

- a. Kandang pemeliharaan
- b. Kandang perlakuan
- c. Alat yang diadaptasikan dari "*Electrical Foot Shock*"
- d. Tempat makan dan minum
- e. Timbangan (neraca Ohaus, *Germany*)
- f. Sarung tangan (Latex) dan masker
- g. Disposable Syringe (Terumo, Japan)
- h. Obyek glass dan glass penghapus
- i. Jarum fiksasi
- j. Stopwatch (Diamond, *Cina*)
- k. Tabung reaksi untuk penampung darah
- l. Rak dari Westergren
- m. Kapas
- n. Penggaris
- o. Pinset

### 3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini :

- a. Ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*)
- b. Tikus wistar jantan
- c. Makanan dan minuman standar tikus wistar yang beredar di pasar yaitu jenis konsentrat produksi Feedmill Malindo, Gresik
- d. Larutan citras natricus 2,8 %
- e. Minyak emersi (Merck, Germany)
- f. Aquadest
- g. Cat Haematoxilin-Eosin
- h. Alkohol 70%

### 3.6 Konversi Dosis Ekstrak Tanaman Meniran

Dosis ekstrak tanaman meniran yang bisa diberikan ke manusia perhari adalah 150 mg sedangkan pada penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan sehingga perlu dilakukan konversi dosis yang tentunya besar dosis yang diberikan berbeda dengan dosis yang diberikan pada manusia.

Konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus 200 gr	= 0,018
Dosis ekstrak tanaman meniran manusia perhari	= 150 mg
Dosis ekstrak tanaman meniran pada tikus	= 0,018 x 150 mg
	= 2,7 mg/200 gr BB

Ekstrak tersebut diencerkan dengan aquadest 2 ml  
(Wattimena, 1993).

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

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

#### 3.7.2 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba

Hewan coba (Tikus wistar jantan) dengan berat 200-250 gram sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 8 ekor :

- a. kelompok (A) adalah kelompok kontrol, dimana tikus hanya diberikan aquadest steril 2 ml dengan sonde lambung pada hari 1-7.
- b. Kelompok (B) adalah kelompok perlakuan I, dimana tikus diberi aquadest steril 2 ml dengan sonde lambung dan stresor renjatan listrik pada hari 1-7.
- c. Kelompok (C) adalah kelompok perlakuan II, dimana tikus diberi ekstrak tanaman meniran dengan menggunakan sonde lambung dan stresor renjatan listrik pada hari 1-7. Pemberian ekstrak tanaman meniran dengan dosis sebesar 2,7 mg/200 gr BB yang dilarutkan dalam aquadest steril 2 ml dilakukan 30-60 menit sebelum pemberian stresor renjatan listrik, sedangkan pemberian stresor rasa sakit dengan cara mengalirkan arus listrik pada lempeng dari seng di dasar kandang perlakuan. Tegangan listrik yang digunakan sebesar 25 V dengan frekuensi 60 Hz

Jumlah renjatan listrik berpedoman pada penelitian Sumintarti (1997) sebagai berikut :

Hari ke	1	=	4	renjatan	2	sesi
Hari ke	2	=	8	renjatan	2	sesi
Hari ke	3	=	10	renjatan	3	sesi
Hari ke	4	=	12	renjatan	3	sesi
Hari ke	5	=	14	renjatan	4	sesi
Hari ke	6	=	16	renjatan	4	sesi
Hari ke	7	=	18	renjatan	5	sesi

Lama 1 kali renjatan sama dengan 1 kejut, diberikan interval 4 menit untuk tiap sesi. Peningkatan cukup besar dimaksudkan agar stres tidak dapat atau tidak mudah diadaptasi.

Perlakuan selanjutnya, pada hari ke-7, hewan coba dikorbankan dan dilakukan pengambilan darah intrakardial minimal 30-60 menit setelah pemberian stresor renjatan listrik, karena pada umumnya kadar kortisol darah mencapai puncak 30-60 menit setelah stresor (Guyton, 1995).

### 3.7.3 Tahap Penghitungan Jumlah Limfosit

#### a. Pembuatan Hapusan Darah

Pembuatan hapusan darah diuraikan pada lampiran D

#### b. Pengecatan Hapusan Darah

Pengecatan hapusan darah diuraikan pada lampiran D

#### c. Penghitungan Jumlah Limfosit

Penghitungan jumlah limfosit dilakukan dengan menggunakan hitung jenis leukosit pada daerah penghitung. Dimulai dari satu sisi dan bergerak menuju sisi yang lain. Lalu pindah sejauh 2-3 lapang pandang ke kiri atau ke kanan dan menuju sisi semula dan sebagainya. Untuk memudahkan penghitungan dapat dipergunakan

kolom-kolom untuk macam-macam leukosit dan masing-masing dibagi 10. Leukosit-leukosit yang kita lihat mula-mula dicatat dalam no 1. Bila jumlahnya sudah 10, kita pindah mengisi kolom kedua dan seterusnya. Jadi tiap-tiap kolom mengurangi 10 leukosit. Bila ke 10 kolom sudah terisi, kita telah mendapatkan 100 sel.

Hasil yang didapat ditulis sbb :

Eos / Bas / Stab / Seg / Limfo / Mono	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%
Eos											
Bas											
Stab											
Seg											
Limfo											
Mono											

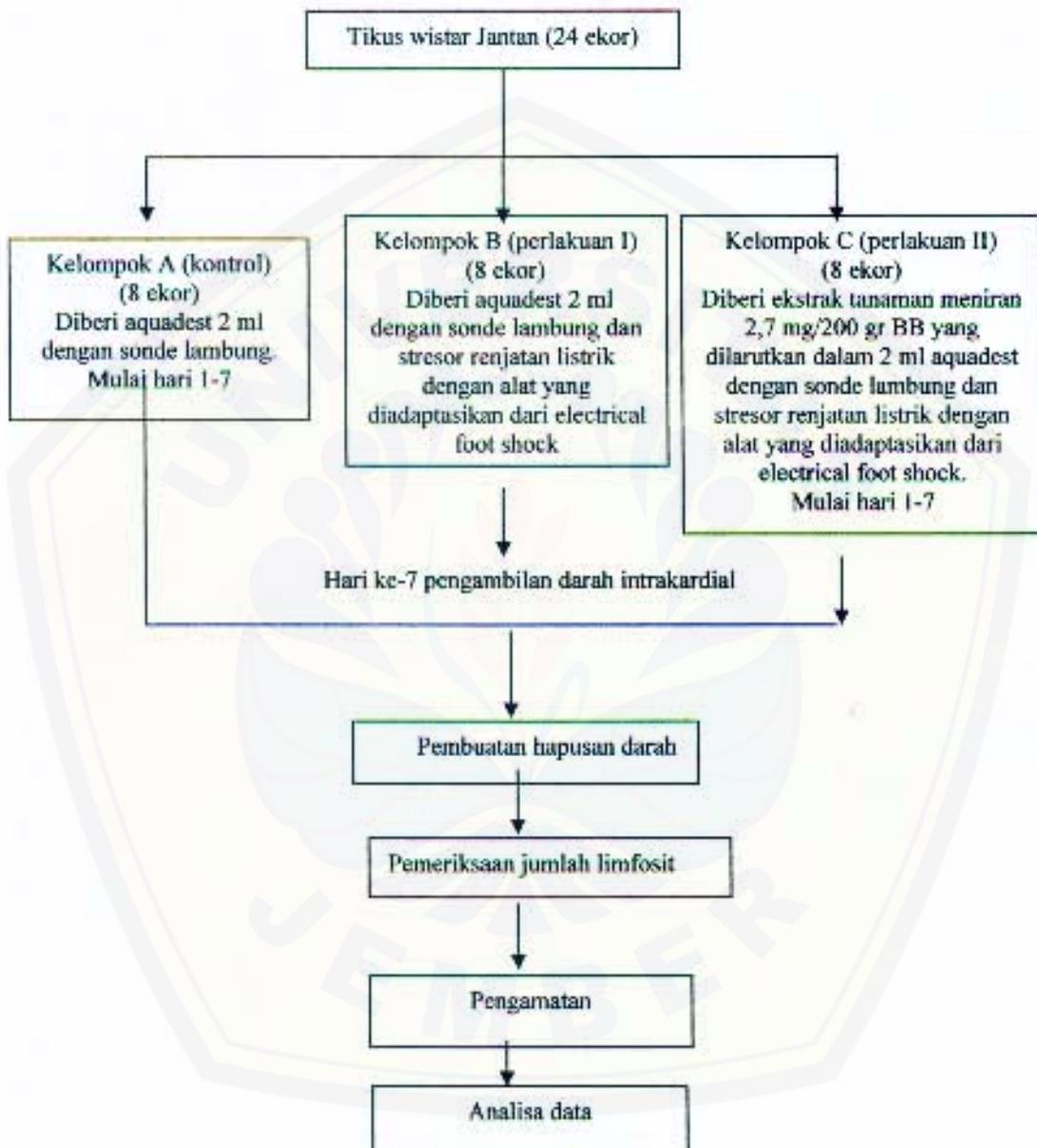
Gambar 2.8 Kolom Hitung Jenis Leukosit (Lee, 1998).

Dari kolom hitung jenis leukosit ditemukan hitung jenis fragmen limfosit dari jumlah leukosit total. Jumlah limfosit dihitung per  $\text{mm}^3$  dengan cara mengalikan hitung jenis fragmen limfosit dengan jumlah leukosit total.

### 3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas dilanjutkan uji statistik parametrik *One Way Anova* ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui perbedaan jumlah limfosit antara kelompok kontrol (A), kelompok perlakuan I (B) yang dipapar stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dan kelompok perlakuan II (C) yang diberikan ekstrak tanaman meniran dan dipapar stresor rasa sakit berupa renjatan listrik kemudian dilanjutkan uji Tukey HSD ( $p < 0,05$ ).

### 3.9 Skema Penelitian





## BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA

### 4.1 Hasil

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Mei 2006 dengan sampel sejumlah 8 ekor pada masing-masing kelompok, terdiri atas 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (A), perlakuan I (B), dan perlakuan II (C) yang dilakukan 3 macam perlakuan sehingga jumlah keseluruhan tikus wistar jantan adalah 24 ekor. Ketiga kelompok dikorbankan pada hari ke-7 setelah diadaptasikan di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi FKG Universitas Jember, dengan perbedaan yaitu kelompok kontrol (A), tikus hanya diberikan aquadest steril 2 ml dengan sonde lambung pada hari 1-7, kelompok perlakuan I (B), tikus diberi aquadest steril 2 ml dengan sonde lambung dan stresor renjatan listrik pada hari 1-7, kelompok perlakuan II (C), tikus diberi ekstrak tanaman meniran dengan menggunakan sonde lambung dan stresor renjatan listrik pada hari 1-7. Setelah dikorbankan, dilakukan pengambilan darah secara intrakardial untuk penghitungan jumlah limfosit darah tepi.

Penghitungan jumlah limfosit dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember, didapatkan hasil rata-rata untuk kelompok kontrol (A) sebesar 1924,875, kelompok perlakuan I (B) sebesar 2471,125 dan kelompok perlakuan II (C) sebesar 3671. Hasil penghitungan jumlah limfosit dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.1 Hasil Penghitungan Hitung Jenis Fragmen Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C).

Sampel	Hitung Jenis Fragmen Limfosit		
	Kontrol (A)	Perlakuan I (B)	Perlakuan II (C)
1	33	22	48
2	33	20	54
3	35	24	45
4	38	26	47
5	31	24	53
6	36	24	53
7	32	27	56
8	35	31	56
Jumlah	273	198	412
rata-rata	34.125	24.75	51.5

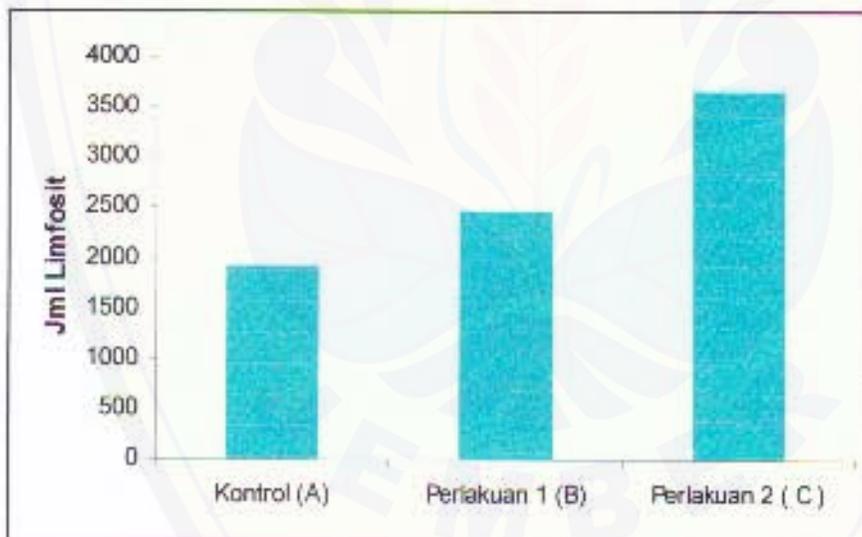
Tabel 4.2 Hasil Penghitungan Jumlah Leukosit Total pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C).

Sampel	Jumlah Leukosit Total		
	Kontrol (A)	Perlakuan I (B)	Perlakuan II (C)
1	6700	10800	5700
2	4600	9200	7200
3	5800	8900	6700
4	5400	9500	6900
5	4900	10200	7400
6	6200	9800	6800
7	5100	11400	7900
8	6300	9900	8100
Jumlah	45000	79700	56700
rata-rata	5625	9962.5	7087.5

Tabel 4.3 Hasil Penghitungan Jumlah Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C).

Sampel	Jumlah Limfosit		
	Kontrol (A)	Perlakuan I (B)	Perlakuan II (C)
1	2211	2376	2736
2	1518	1840	3888
3	2030	2136	3015
4	2052	2470	3243
5	1519	2448	3922
6	2232	2352	3604
7	1632	3078	4424
8	2205	3069	4536
Jumlah	15399	19769	29368
rata-rata	1924.875	2471.125	3671

Graph



Gambar 4.1 Histogram Jumlah Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan II (B) dan Perlakuan II (C).

Hasil data diatas selanjutnya dianalisa menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas, dilanjutkan dengan uji parametrik Anova *One Way* kemudian dilanjutkan uji Tukey HSD.

#### 4.2 Analisa Data

Hasil penghitungan jumlah limfosit antara kelompok kontrol (A), perlakuan I (B) dan perlakuan II (C) dianalisa menggunakan uji normalitas 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 tersebut sama.

Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov pada Penghitungan Jumlah Limfosit pada Kelompok Kontrol (A), Perlakuan I (B) dan Perlakuan II (C).

Kelompok		Kolgomorov-Smirnov <sup>a</sup>		
		Statistic	df	Sig.
Jumlah Limfosit	Kontrol	.255	8	.133
	perlakuan 1	.251	8	.147
	perlakuan 2	.151	8	.200*

Tabel diatas memperlihatkan bahwa nilai probabilitas jumlah limfosit pada kelompok kontrol (A) sebesar 0,133; perlakuan II (B) sebesar 0,147; dan perlakuan II (C) sebesar 0, 200 ( $\alpha > 0,05$ ) yang berarti bahwa data penelitian tersebut berdistribusi normal.

Tabel 4.5 Hasil Uji Homogenitas pada Penghitungan Jumlah Limfosit

Levene Statistic	df1	df2	df3
2.493	2	21	.107

Keterangan :

df1 : derajat bebas kelompok perlakuan

df2 : standar error

Sig : probabilitas

Tabel diatas memperlihatkan bahwa nilai Levene statistic sebesar 0,107 dengan nilai probabilitas sebesar 0,107 ( $\alpha > 0,05$ ) yang berarti data adalah sama (homogen).

Setelah diketahui data tersebut normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan uji beda untuk beberapa variabel menggunakan uji Anova one way yang dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Uji Anova One Way pada Penghitungan Jumlah Limfosit.

Jumlah limfosit	Df	F	Sig.
Between Groups	2	24.188	.000

Keterangan :

- F : taraf kepercayaan  
 Sig : probabilitas ( $\alpha < 0,05$ )

Dari hasil uji Anova one way yang dilakukan terlihat bahwa nilai F sebesar 24,188 dengan probabilitas sebesar 0,000 ( $\alpha < 0,05$ ) yang menunjukkan adanya perbedaan statistik yang signifikan terhadap jumlah limfosit pada kelompok kontrol (A), perlakuan I (B) dan perlakuan II (C).

Setelah dilakukan uji Anova one way yang menunjukkan kemaknaan ketiga kelompok tersebut, dilakukan uji Tukey HSD untuk mengetahui kemaknaan statistik dari masing-masing kelompok yang dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil uji Tukey HSD pada penghitungan jumlah limfosit

Variabel	Variabel Pembanding	Sig.
Kontrol	Perlakuan 1	.098
	Perlakuan 2	.000
Perlakuan 1	Kontrol	.098
	Perlakuan 2	.000
Perlakuan 2	Kontrol	.000
	Perlakuan 1	.000

Dari hasil uji Tukey HSD pada tabel pemeriksaan jumlah limfosit diatas diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol (A) dengan perlakuan I (B) dengan probabilitas  $P > 0,05$ . Sedangkan antara kelompok kontrol (A) dengan perlakuan II (C) serta antara kelompok perlakuan I (B) dengan perlakuan II (C) terdapat perbedaan yang bermakna dengan probabilitas  $P < 0,05$ .





## BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan jumlah limfosit pada tikus wistar jantan yang diberikan ekstrak tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) dan dipapar stresor rasa sakit berupa renjatan listrik dibandingkan dengan yang hanya dipapar stresor rasa sakit. Hal ini terjadi karena hitung jenis fragmen limfosit yang meningkat sangat tinggi sehingga meskipun jumlah leukosit total menurun, diperoleh hasil jumlah limfosit pada kelompok perlakuan II (C) tetap lebih tinggi dibandingkan perlakuan I (B). Hal ini kemungkinan disebabkan ekstrak tanaman meniran yang mengandung flavonoid menghambat sekresi glukokortikoid, sehingga leukosit di *Marginal Granulocyt Pool* (MGP) meningkat dan aliran ke dalam *Circulating Granulocyt Pool* (CGP) menurun dan mengakibatkan leukosit menurun dalam sirkulasi. Dengan adanya penghambatan sekresi glukokortikoid, selanjutnya jumlah limfosit T, limfosit B dan tampak fragmen limfosit pada hitung jenis yang meningkat.

### 6.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan :

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.
2. Pemberian ekstrak tanaman meniran dapat digunakan sebagai terapi atau tindakan preventif pada kondisi stres.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asnar, E.T.P. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respons Imun Mukosal Tikus Yang Stres Akibat Stresor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psiconeuroimunologi*. Disertasi Program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya : UNAIR.
- Atkinson, L.R. dan Atkinson, C.R. 1999. *Pengantar Psikologi Edisi 8*. Alih Bahasa : Nurdjannah Taufik. Judul Asli : *Introduction To Psychology*. Jakarta : Erlangga.
- Bagnara, J.T dan Turner C.D. 1998. *Endokrinologi Umum*. Yogyakarta : Airlangga University Press.
- Baker, HJ.JR. 1980. *The Laboratory Rat. Vol 1. Research Application*. Sandiego : Academic Press Inc.
- Baron, D.N. 1995. *Kapita Selekta Patologi Klinik Edisi 4*. Alih Bahasa : Petrus Andrianto dan Johannes Gunawan. 1984. Judul Asli : *A Short Textbook Of Chemical Pathology*. Jakarta : EGC.
- Bevelander, G. 1979. *Dasar-Dasar Histologi Edisi 8*. Alih Bahasa : Wisnu Gunarso. 1979. Judul Asli : *Essentials Of Histology, Eighth Edition*. Jakarta : Erlangga.
- Burgess, G.W. 1995. *Teknologi Elisa Dalam Diagnosa dan Penelitian*. Alih Bahasa : E.V. De Buysscher, R.M. Patterson, J.R. Smith. 1988. Judul Asli : *Elisa Technology In Diagnosis and Research*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Cornack, D.H. 1994. *Ham Histologi Jilid I Edisi 9*. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Craigmyle, M.B.L. 1987. *Atlas Berwarna Histologi Edisi 2*. Alih Bahasa : Jan Tambajong. 1986. Judul Asli : *Acolour Atlas Of Histology*. Jakarta : EGC.
- Dewanti, I.D.A.R dan Elyana, I. 2003. *Kelelahan Menurunkan Jumlah Sel Radang Pada Luka Traumatik Rongga Mulut. Dalam Majalah Kedokteran Gigi (Dent.Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Kedokteran III 6-9 Agustus 2003*. Surabaya : FKG UNAIR.
- Dorland. 1996. *Kamus Kedokteran Dorland*. Alih Bahasa : Tim Penerjemah EGC. 1985. Judul Asli : *Dorland Illustrated Medical Dictionary*. Jakarta : EGC.
- Forrest, J.O. 1995. *Pencegahan Penyakit Mulut Edisi II*. Alih Bahasa : Lilian Yuwono. 1981. Judul Asli : *Preventive Dentistry*. Jakarta : Hipocrates.

- Guyton, A.C. 1995. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit Edisi 3*. Alih Bahasa : Petrus Andrianto. 1983. Judul Asli : Human Physiology and mechanism Of Disease. Jakarta : EGC
- Guyton dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Alih Bahasa : Irawati Setiawan, dkk. 1996. Judul Asli : Textbook Of Medical Phisiology, 9/E. Jakarta : EGC.
- Gusrizal, D. 2003. *Meniran Si Pemecah Batu*. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0306/21/inspirasi/382651.htm>. (7 Desember 2005).
- Harijanti, K, Mintarsih, M. Jusri. 2003. *Mekanisme Kerja Kortikosteroid Pada Mukositis Rongga Mulut. Dalam Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III 6-9 Agustus 2003*. Surabaya : FKG UNAIR.
- Haskell, R dan Gayford, J.J.1991. *Penyakit Mulut*. Alih Bahasa : Lilian Yuwono. 1979. Judul Asli : Clinical Oral Medicine. Jakarta : EGC.
- Heckner, F dan Freund, M. 1999. *Atlas Hematologi Praktikum Hematologi Dengan Mikroskop Edisi 9*. Alih Bahasa : Septelia Inawati Wanandi. 1997. Judul Asli : Praktikum Der Mikroskopischen Hamatologic.9.Auflage. Jakarta : EGC.
- Hindun.2005. *Skripsi : Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Staphylococcus aureus*. Jember : FKG UNEJ.
- Hoffrand, A.V, Petik, J.E.1996. *Kapita Selekta "Hematology" Ed.2*. Alih Bahasa : Iyan, D. Jakarta : EGC.
- Ibrahim, A.S. 1992. *Menopause Apakah Anda Sudah Disana ? Cetakan Pertama*. Jakarta : Ind-Hill.
- Ibrahim, A.S. 1996. *Takut Mati Cemas, Was-Was dan Khawatir (Ansietas), Cetakan Kedua*. Jakarta : PT. Dian Ariesta.
- Junqueira, L.C. 1997. *Histologi Dasar Edisi 8*. Alih Bahasa : Jan Tambayong. 1995. Judul Asli : Basic Histology. Jakarta : EGC.
- Kartasapoetra, SS.G. 1996. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat (Meningkatkan Apotik Hidup dan Pendapatan Para Keluarga Petani dan PKK)*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Katzung, B.G. 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 3*. Alih Bahasa : Binawati H Kotualubun, dkk .1987. Judul Asli : Basic and Clinical Pharmacology. Jakarta : EGC.
- Kiftiyah, M.2005. *Skripsi : Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Staphylococcus aureus*. Jember : FKG UNEJ.

- Lee, G.R,et.al. 1998. *Wintrobe's Clinical Hematologi 10th.Ed.*Baltimore : Williams And Wilkins.
- Liben, P. 1999. *Neurotransmitter dan Hormon Dalam Psiconeuroimunologi Dalam Workshop Psiconeuroimunologi 25-26 September 1999 Kelompok Studi Psiconeuroimunologi*, Gramik : FK UNAIR.
- Lubis, W.H. 2000. *Kebisingan, Pengaruhnya Terhadap Kesehatan. Dalam Dentika Majalah Kedokteran Gigi Vol.5.* Sumatera Utara : FKG USU.
- Maat, S. 2001. *Ekstraks Phyllanthus Niruri Sebagai Terapi Umum dan Terapi Ajuvan Untuk Penyakit-Penyakit Infeksi.* Disampaikan pada Simposium Jakarta Allergy and Clinical Immunology Meeting.
- Maat, S. 2002. *Memadukan Tanaman Obat dan Kedokteran.* [http ://www.kompas.com](http://www.kompas.com). Diakses tanggal 21 November 2005.
- Mardjono, M dan Sidharta, P. 1994. *Neurologi Klinis Dasar Edisi 6.* Jakarta : Dian Rakyat.
- Mooduto, L.2003. *Paradigma Imunopatobiologik Pada Pulpitis Reversibel dan Irreversibel (Artikel) Majalah Kedokteran Gigi. Dental Journal Vol. 36 no.3 Juli.* Surabaya : FKG UNAIR.
- Munasir, Z. 2002. *Imunomodulator Baru Dalam Terapi Penyakit Paru.* [http ://www.tempointeraktif.com](http://www.tempointeraktif.com). Diakses jam 07.30.
- Mustaqimah, D.N. 2000. *Kondisi Subpopulasi Limfosit Penderita Early Onset Periodontitis Pengunjung Klinik Periodonsia Rumah Sakit Gigi dan Mulut FKG UI. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah KPPIKG XII.* Jakarta : FKG UI.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian. Edisi Revisi.* Jakarta : Rineka Pustaka.
- Priandini, D dan G.P. Subita. 1999. *Pengaruh Faktor Psikogenik Sebagai Penyebab Sindroma Mulut Terbakar. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Forum Ilmiah VI 1999. Vol.2.* Jakarta : FKG USAKTI.
- Putra, S.T. 1993. *Peran dan Penerapan Konsep Psiconeurologi Dalam Sport Medicine. Dalam Makalah Lustrum II Program Pasca Sarjana UNAIR Seminar Sumber Daya Manusia 17-18 September 1993.* Surabaya : UNAIR.
- Sampurna. 2005. *Ekstrak Tanaman Meniran Sebagai Terapi Ajuvan Tuberkulosis.* [http ://www.republika.co.id](http://www.republika.co.id). Diakses jam 21:40:21 tanggal 21 November 2005.

- Selye, H. 1982. *History and Present Status Of The Stress Concept. Dalam Handbook Of Stress Theoretical and Clinical Aspect. Editor : Goldbelger, L. and Broznitz, S. Collier Mac William PJG. New York.*
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem. Edisi II. Jakarta : EGC.*
- Smet, B. 1994. *Psikologi Kesehatan. Jakarta : PT.Grasindo.*
- Soedibyo, M.B.R.A. 1998. *Alam Sumber Kesehatan Cetakan 1. Jakarta : Balai Pustaka.*
- Steel, R.G.D, James H.T. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik Edisi II. Alih Bahasa : Bambang Sumantri. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.*
- Subowo. 1992. *Histologi Umum Edisi 1, Cetakan 1. Jakarta : Bumi Aksara.*
- Suhardjo, dkk. 2003. *Peningkatan Kadar Kortisol Pada Pasien Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS) Pendekatan Imunologi. Dalam Dentika Dental Journal Vol.8 No.2 (Supplement). Surabaya : FKG UNAIR.*
- Sulaksana, J dan Jayusman, D.I. 2004. *Meniran Budidaya dan Pemanfaatan Untuk Obat. Jakarta : Penebar Swadaya.*
- Sulistiyani, E. 2003. *Mekanisme Eksaserbasi Recurrent Aphthous Stomatitis Yang Dipicu Oleh Stresor Psikologis. Dalam Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Kedokteran III 6-9 Agustus 2003. Surabaya : FKG UNAIR.*
- Suryadhana, dkk. 1997. *Evaluasi Tingkat Migrasi Neutrofil (OMR) Dalam Mulut Pada Mahasiswa FKG UI Dengan Stres Akademik. Dalam Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia Vol.4. No.3 Jakarta : FKG UI.*
- Tim Biologi Oral. 2005. *Petunjuk Praktikum Biologi Mulut. Jember : FKG UNEJ.*
- Tjitrosoepomo, G. 1991. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta), Cetakan 3. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.*
- Wattimena, J.R dan M.B. Widiyanto. 1993. *Laboratorium Farmakologi. Bandung : Institut Teknologi Bandung.*
- Webster, et.al. 1998. *Corticotropin-Releasing Hormone and Inflammation. In (McCANN sm ET AL, ed.) Neuroimmunomodulation : Molecular Aspect, Integrative Systems and Clinical Advances. The New York Of Science, New York.*

- Wijaya, A. 2005. *Skripsi : Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Staphylococcus aureus*. Jember : FKG UNEJ.
- Yuwono, B. 2001. *Perawatan Ranula Dengan Tindakan Marsupialisasi (Artikel)*. Jember : Badan Penerbit UNEJ.



## Lampiran A. 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 B. Konversi Dosis Ekstrak Tanaman Meniran

Dosis ekstrak tanaman meniran yang bisa diberikan ke manusia perhari adalah 150 mg sedangkan pada penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan sehingga perlu dilakukan konversi dosis yang tentunya besar dosis yang diberikan berbeda dengan dosis yang diberikan pada manusia.

Konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus 200 gr	= 0,018
Dosis ekstrak tanaman meniran manusia perhari	= 150 mg
Dosis ekstrak tanaman meniran pada tikus	= 0,018 x 150 mg
	= 2,7 mg/200 gr BB

Ekstrak tersebut diencerkan dengan aquadest 2 ml  
(Wattimena, 1993).

**Lampiran C. 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, Gresi

#### Lampiran D. Penghitungan Jumlah Limfosit

##### a. Pembuatan Hapusan Darah

1. Setetes darah diletakkan dekat salah satu ujung dari gelas obyek.
2. Gelas penghapus dipegang sedemikian rupa sehingga ia membuat sudut  $\pm 30^0$  dengan gelas obyek dan tetesan darah tadi terletak di dalam sudut tersebut.
3. Gelas penghapus ini digeserkan ke arah tetesan darah, sehingga menyentuhnya dan darah tadi akan merata antara ujung gelas penghapus dan gelas obyek.
4. Gelas penghapus dengan cepat digeserkan ke arah yang bertentangan dengan arah pertama. Darah akan merata di atas gelas obyek sebagai lapisan yang tipis.
5. Hapusan ini segera dikeringkan dengan menggerakannya di udara atau dapat dipakai kipas angin. Jangan ditiup dengan hembusan nafas.
6. Mengeringkan hapusan dengan segera penting sekali (Lee, 1998)

##### b. Pengecatan Hapusan Darah

1. Hapusan yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan *Giemsa* pada lapisan darah, sehingga tertutup seluruhnya. Waktu fiksasi ialah  $\pm 2$  menit.
2. Pengecatan dilanjutkan dengan menambahkan (meneteskan) larutan bufer yang sama banyaknya (atau  $1\frac{1}{2}$  banyaknya) pada *Giemsa* tadi. Bufer fosfat dan *Giemsa* ini segera dicampur dengan jalan meniup-niup beberapa kali. Sekarang ditunggu  $\pm 20$  menit sehingga sel-sel tercat dengan baik.
3. Hapusan dicuci dengan *aquadest* atau air biasa.
4. Hapusan diletakkan pada sisinya dan ditunggu sampai kering. Jangan mengeringkan hapusan darah dengan kertas saring, kapas dan sebagainya (Lee, 1998).

### c. Penghitungan Jumlah Limfosit

Penghitungan jumlah limfosit dilakukan dengan menggunakan hitung jenis leukosit pada daerah penghitung. Dimulai dari satu sisi dan bergerak menuju sisi yang lain. Lalu pindah sejauh 2-3 lapang pandang ke kiri atau ke kanan dan menuju sisi semula dan sebagainya. Untuk memudahkan penghitungan dapat dipergunakan kolom-kolom untuk macam-macam leukosit dan masing-masing dibagi 10. Leukosit-leukosit yang kita lihat mula-mula dicatat dalam no 1. Bila jumlahnya sudah 10, kita pindah mengisi kolom kedua dan seterusnya. Jadi tiap-tiap kolom mengurangi 10 leukosit. Bila ke 10 kolom sudah terisi, kita telah mendapatkan 100 sel.

Hasil yang didapat ditulis sbb :

Eos / Bas / Stab / Seg / Limfo / Mono

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%
Eos											
Bas											
Stab											
Seg											
Limfo											
Mono											

Kolom Hitung Jenis Leukosit (Lee, 1998).

Dari kolom hitung jenis leukosit ditemukan hitung jenis fragmen limfosit dari jumlah leukosit total. Jumlah limfosit dihitung per  $\text{mm}^3$  dengan cara mengalikan hitung jenis fragmen limfosit dengan jumlah leukosit total.

## Lampiran E. Hasil Analisa Data

## E.1 Uji Normalitas

## Tests of Normality

Kelompok		Kolgomorov-Smirnov <sup>a</sup>			Saphiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Limfosit	Kontrol	.255	8	.133	.811	8	.038
	perlakuan 1	.251	8	.147	.907	8	.331
	perlakuan 2	.151	8	.200*	.927	8	.490

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

a. Lilliefors Significance Correction

## E.2 Uji Homogenitas

## Test of homogeneity of variance

		Levene Statistic	df1	df2	df3
Jumlah Limfosit	Based on mean	2.493	2	21	.107
	Based on Median	2.333	2	21	.122
	Based on Median and with adjusted df	2.333	2	17.644	.126
	Based on trimmed mean	2.498	2	21	.106
E.3 Uji Anova One Way					

## ANOVA

Jumlah Limfosit	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12137856	2	6068928.125	24.188	.000
Within Groups	5269144	21	250911.607		
Total	17407000	23			

## E.4 Uji Tukey HSD

## Multiple Comparisons

Dependent Variable : Jumlah Limfosit

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Perlakuan 1	-546.250	250.455	.098	-1177.54	85.04
	Perlakuan 2	1705.625*	250.455	.000	-2336.92	-1074.33
Perlakuan 1	Kontrol	546.25	250.455	.098	-85.04	1177.54
	Perlakuan 2	1159.375*	250.455	.000	-1790.67	-528.08
Perlakuan 2	Kontrol	1705.625*	250.455	.000	1074.33	2336.92
	Perlakuan 1	1159.375*	250.455	.000	528.08	1790.67

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

## Jumlah Limfosit

Tukey HSD <sup>a</sup>		Subset for alpha = .05	
Kelompok	N	1	2
Kontrol	8	1924.88	
Perlakuan 1	8	2471.13	
Perlakuan 2	8		3630.50
Sig.		.098	1.000

Means for Groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000

## Lampiran F. Foto-Foto Penelitian



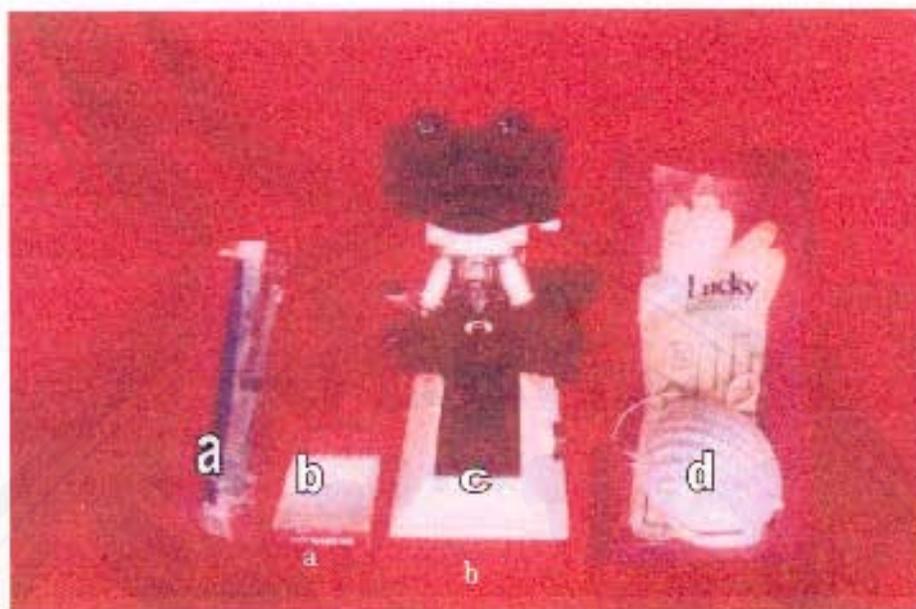
Keterangan gambar:

- a. Minyak emersi
- b. Larutan untuk Pengecatan
- c. Eter

- d. Aquadest steril
- e. Ekstrak tanaman meniran

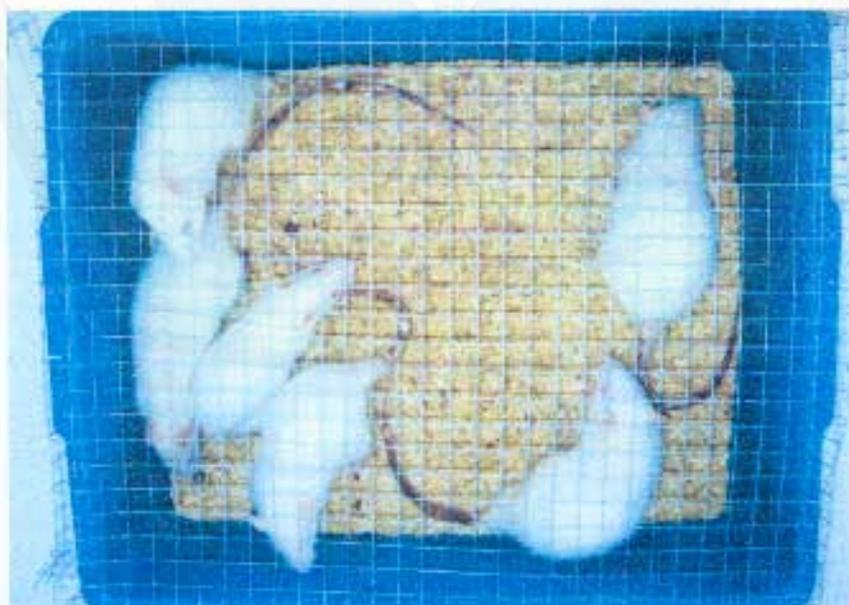


Keterangan gambar: *Electrical Foot Shock*

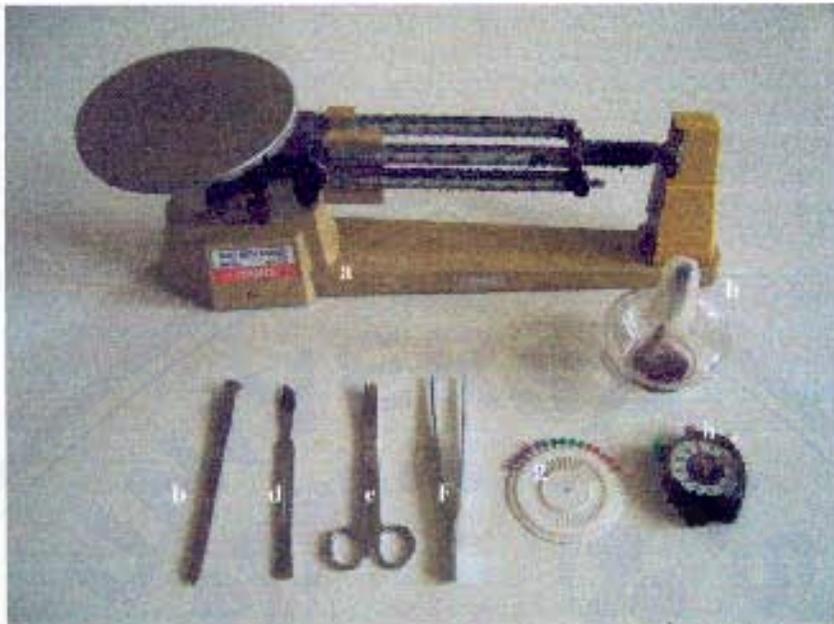


Keterangan gambar:

- a. Disposable syringe
- b. Object glass dan deck glass
- c. Mikroskop binokuler
- d. Sarung tangan dan masker



Keterangan gambar : Kandang Pemeliharaan



Keterangan gambar:

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



JEMBER

Lampiran G. Hasil Laboratorium Pemeriksaan Jumlah limfosit

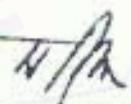
**LABORATORIUM KESEHATAN DAERAH  
JL. DEWI SARTIKA NO. 56 TELP. 0331 485803**

Nama : Ade Suryaningsih

PX : Jumlah Limfosit

No.	K1	P1	P2
1	2200	2300	2700
2	1500	1800	3800
3	2000	2100	3000
4	2000	2400	3200
5	1500	2400	3900
6	2200	2300	3600
7	1600	3000	4400
8	2200	3000	4500

KEPALA LABKESDA

  
Dr. H.A. WAHYU WIDODO, M.KES  
NIP. 140 170 492

