



**PENGARUH PEMAPARAN *Entamoeba gingivalis*  
TERHADAP JUMLAH POLIMORFONUKLEAR  
NEUTROFIL PADA TIKUS *WISTAR* JANTAN  
DENGAN RADANG GINGIVA**

**SKRIPSI**

Oleh  
**Dewi Maya Dyaningsih**  
**021610101044**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2007**

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemaparan *Entamoeba gingivalis* terhadap Jumlah Polimorfonuklear Neutrofil pada Tikus *Wistar* Jantan dengan Radang Gingiva;** Dewi Maya Dyaningsih, 021610101044; 2007: 38 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Parasit merupakan organisme yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia. Beberapa diantaranya sering menginfeksi tanpa menunjukkan gejala klinis yang pasti. *Entamoeba gingivalis* merupakan salah satu jenis parasit yang menginfeksi manusia pada rongga mulutnya tanpa menunjukkan gejala klinis. Parasit ini terutama ditemukan pada gigi yang berlubang dan sulkus gingiva, serta di jaringan gingiva sekitar gigi pada keadaan radang atau bernanah. *E. gingivalis* sebelumnya dianggap parasit yang komensal, sampai akhirnya beberapa peneliti menemukan bahwa *E. gingivalis* bersifat patogen yaitu dapat memfagosit sel darah putih dan sel darah merah. Polimorfonuklear neutrofil (PMN neutrofil) merupakan salah satu jenis sel darah putih yang berperan pertama kali pada saat radang dan memfagosit antigen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemaparan *E. gingivalis* terhadap jumlah PMN neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Bagian Fisiologi dan Parasitologi FKG UNEJ. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan sebanyak 16 ekor. Gigi insisiv dari seluruh hewan coba tersebut diligasi dengan *wire* untuk mendapatkan keadaan radang gingiva. 16 hewan coba tersebut selanjutnya dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Kelompok kontrol dipapar dengan larutan

fisiologis, sedangkan kelompok perlakuan dipapar dengan *E. gingivalis*. Pemaparan dilakukan selama 6 hari. Data diperoleh dengan penghitungan jumlah PMN neutrofil masing-masing kelompok pada hari ke-4 dan ke-7.

Analisis data menggunakan *independent t-test*. Hasilnya menunjukkan bahwa jumlah PMN neutrofil pada hari ke-4 dan ke-7 tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Kesimpulan penelitian ini adalah pemaparan *E. gingivalis* tidak berpengaruh terhadap jumlah PMN neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 <i>Entamoeba gingivalis</i></b> .....	4
2.1.1 Klasifikasi .....	4
2.1.2 Morfologi .....	5
2.1.3 Biologi.....	5
2.1.4 Epidemiologi .....	6
2.1.5 Patogenesis.....	6

<b>2.2 Radang</b> .....	7
2.2.1 Radang Gingiva.....	11
<b>2.3 Leukosit</b> .....	15
2.3.1 Polimorfonuklear Neutrofil.....	16
<b>2.4 Hipotesis</b> .....	19
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	20
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	20
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	20
3.2.1 Tempat Penelitian.....	20
3.2.2 Waktu Penelitian .....	20
<b>3.3 Identifikasi Variabel Penelitian</b> .....	20
3.3.1 Variabel Bebas .....	20
3.3.2 Variabel Terikat .....	20
3.3.3 Variabel Terkendali.....	20
<b>3.4 Definisi Operasional Variabel</b> .....	21
3.4.1 <i>Entamoeba gingivalis</i> .....	21
3.4.2 Jumlah Polimorfonuklear Neutrofil .....	21
<b>3.5 Sampel Penelitian</b> .....	21
3.5.1 Kriteria Sampel .....	21
3.5.2 Besar Sampel .....	22
3.5.3 Pengambilan Sampel.....	22
<b>3.6 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	23
3.6.1 Alat Penelitian.....	23
3.6.2 Bahan Penelitian.....	23
<b>3.7 Prosedur Penelitian</b> .....	24
3.7.1 Tahap Persiapan .....	24
3.7.2 Tahap Perlakuan.....	24
3.7.3 Prosedur Pembuatan Hapusan Darah .....	24
3.7.4 Prosedur Pengecatan Hapusan Darah.....	25

3.7.5 Prosedur Penghitungan Jumlah Polimorfonuklear Neutrofil .....	25
<b>3.8 Analisis Data .....</b>	<b>26</b>
<b>3.9 Alur Penelitian.....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
<b>4.1 Hasil.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>32</b>
<b>BAB 5.KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>35</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>35</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>39</b>

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Parasit adalah suatu organisme yang bertempat tinggal pada atau didalam organisme hidup yang lain supaya memperoleh lingkungan dan zat makanan yang diperlukan bagi pertumbuhan dan reproduksinya. Parasit tersebut dapat menimbulkan penyakit jika ia merusak hospes atau inangnya sampai suatu taraf tertentu, dan kemudian timbul gangguan pada hospes tersebut. Pada manusia, parasit dapat menimbulkan gangguan pada bagian yang diserang (Jawetz dkk, 1991: 181).

Beberapa parasit yang menginfeksi manusia sering terjadi tanpa menunjukkan gejala klinis yang pasti. Salah satu jenis parasit yang menginfeksi manusia pada rongga mulut tanpa menunjukkan gejala klinis, dan bahkan dianggap sebagai parasit yang komensal adalah *Entamoeba gingivalis*. Parasit tersebut adalah parasit dari filum protozoa, yang habitatnya di dalam rongga mulut terutama pada gigi berlubang dan sulkus gingiva, serta di jaringan gingiva sekitar gigi khususnya pada keadaan radang atau bernanah (Mardijana, 1996: 22-23).

Radang merupakan reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas, dimana dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan dan sel-sel tubuh di tempat jejas (Robbins dan Kumar, 1995: 28). Proses radang dapat merangsang sel-sel pertahanan tubuh untuk melawan antigen yang masuk. Salah satu sel pertahanan tubuh yang berperan dalam proses peradangan adalah sel darah putih atau leukosit. Pada awal peradangan akut, viskositas darah pada arteriol naik dan alirannya lambat. Pada saat ini sel-sel darah putih mulai mengalami *marginasi*, yaitu mereka bergerak ke bagian arus perifer, sepanjang pembuluh darah (Price dan Wilson, 1994: 40).

Sel darah putih merupakan sel pertahanan tubuh yang memfagosit antigen yang masuk ke dalam tubuh dan terdiri dari berbagai jenis, antara lain granulosit,

limfosit, dan monosit. Granulosit terdiri dari tiga jenis, yaitu neutrofil, basofil, dan eosinofi. Neutrofil biasa disebut juga sebagai polimorfonuklear neutrofil (PMN neutrofil). Sel ini merupakan sel pertahanan tubuh yang efektif melawan infeksi bakteri dan jamur. Meskipun monosit-makrofag dan granulosit lain juga memfagosit sel, PMN neutrofil merupakan sel darah putih yang secara prinsipil berperan dalam fagositosis (Turgeon, 1996: 36).

Hasil penelitian yang dilakukan Lyons (2005) menunjukkan bahwa *E. gingivalis* ternyata memfagosit sitoplasma dari sel darah putih, dan juga dapat memfagosit nukleus sel darah putih. Selain itu *E. gingivalis* juga menyerang sel darah merah dan menghisap hemoglobin pada jaringan yang terinfeksi. Pendapat tersebut diperkuat oleh Bonner (2005) yang menyatakan bahwa secara mikroskopis terlihat *E. gingivalis* memfagosit nukleus sel darah merah dan sel darah putih. Padahal seperti diketahui sel darah putih merupakan sel pertahanan tubuh yang berperan dalam fagositosis terhadap antigen.

Dari uraian di atas, penulis ingin mengetahui pengaruh *E. gingivalis* terhadap jumlah PMN neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva. Tikus *Wistar* digunakan dalam penelitian ini karena tikus ini memiliki alat pencernaan dan kebutuhan nutrisi yang hampir sama dengan manusia. Pemilihan jenis kelamin jantan adalah untuk menghindari pengaruh faktor hormonal (Baker, 1980 dalam Mardiyana, 2005: 2).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah pemaparan *Entamoeba gingivalis* mempengaruhi jumlah polimorfonuklear neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva?

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemaparan *Entamoeba gingivalis* terhadap jumlah polimorfonuklear neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva.



#### **1.4 Manfaat**

1. Dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh *Entamoeba gingivalis* terhadap jumlah polimorfonuklear neutofil.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu parasitologi, terutama di bidang kedokteran gigi.
3. Dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Entamoeba gingivalis*

*Entamoeba gingivalis* adalah amoeba pertama yang ditemukan pada manusia. Jenis parasit ini ada pada semua populasi, yang tinggalnya hanya di rongga mulut (Roberts dan Schmidt, 2000). *E. gingivalis* merupakan jenis parasit yang tergolong dalam phylum Protozoa. Sinonim dari *E. gingivalis* adalah *Entamoeba buccalis* (Bass dan Johns, 1915 dalam Faust dan Russell, 1961: 179).

#### 2.1.1 Klasifikasi

*Entamoeba gingivalis* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Superkingdom	: <i>Eukaryotae</i>
Kingdom	: <i>Animalia</i>
Subkingdom	: <i>Protozoa</i>
Filum	: <i>Sarcomastigophora</i>
Subfilum	: <i>Sarcodina</i>
Superklas	: <i>Rhizopoda</i>
klas	: <i>Lobosa</i>
Subclass klas	: <i>Gymnamoeba</i>
Ordo	: <i>Amoebida</i>
Subordo	: <i>Tubulina</i>
Famili	: <i>Entamoebidae</i>
Genus	: <i>Entamoeba</i>
Spesies	: <i>Entamoeba gingivalis</i>

(Anonim, 2007a).

### 2.1.2 Morfologi

*Entamoeba gingivalis* tidak membentuk kista. Pada spesies ini hanya ditemukan trophozoit, dengan ukuran 5-35 mikron. Diameter trophozoit sebesar 10-20 mikron, terdapat satu buah nukleus dengan kariosom sentris. Kromatin granula besarnya hampir sama dan susunannya tidak rata. Pada trophozoit terdapat pseudopodia (Mardijana, 1996: 51). Spesies ini dapat bergerak dengan sangat cepat karena adanya pseudopodia. Nukleusnya berdiameter 2-4 mikron dan mempunyai endosom yang kecil (Roberts dan Schmidt, 2000: 108).

Morfologi *E. gingivalis* mirip dengan *Entamoeba histolytica*. Untuk membedakannya harus dilakukan pemeriksaan sputum, dimana mungkin juga ditemukan *E. histolytica* yang berasal dari abses paru-paru. Pada sitoplasmanya sering ditemukan leukosit yang difagosit. Pada sediaan pulasan permanen, terlihat fragmen inti dari sel darah putih dalam vakuol makanan yang biasanya lebih besar daripada vakuol yang terlihat pada *E. histolytica* (Garcia dan Bruckner, 1996: 18).

### 2.1.3 Biologi

Secara biologi, *Entamoeba gingivalis* hidup di permukaan gigi dan gingiva, pada poket gingiva dekat dengan dasar dari gigi, dan kadang-kadang berada di kripta tonsil. Mereka sering terlihat pada gigi palsu jika alat tersebut tidak terjaga kebersihannya (Robert dan Schmidt, 2000: 108-109). DeMoraes-Ruehsen dkk (1980) dalam Garcia dan Bruckner (1996: 19), menyatakan bahwa *E. gingivalis* juga ditemukan pada sediaan hapus vagina dan servik dari wanita yang menggunakan I.U.D. Organisme ini spontan hilang apabila I.U.D disingkirkan. Organisme ini sering meningkat pada penyakit gusi dan tonsil, tapi tidak ada fakta yang menunjukkan bahwa mereka adalah penyebab dari kondisi ini.

Protozoa ini membelah secara cepat dengan meningkatnya jumlah makanan (Robert dan Schmidt, 2000: 109). *E. gingivalis* berkembang biak dengan cara *binary fission multiplikasi*.



Trophozoit *Entamoeba gingivalis*: bentuk oval dan berinti (tanda panah)  
(Henriquez dan Gracia, 2007)

Gambar 2.1 Trophozoit *Entamoeba gingivalis*

#### 2.1.4 Epidemiologi

Cara transmisi *Entamoeba gingivalis* adalah melalui *droplet spray* dari mulut manusia yang terinfeksi, kontak tertutup dengan berciuman, dan kontaminasi gelas minuman atau piring makanan (Mardijana, 1996: 51-52). Insiden infeksi *E. gingivalis* pada *oral hygiene* yang kurang baik adalah berkisar antara 71-95,5 %. Sedangkan pada rongga mulut yang sehat, dilaporkan insidensinya 10-50% pada setiap individu (Faust dan Russell, 1961: 180).

Penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa infeksi rata-rata *E. gingivalis* dari pasien dengan periodontitis lebih tinggi daripada kelompok sehat, yaitu 67,06% dibanding 38,97%. Hasil ini sama dengan laporan penelitian lainnya di seluruh dunia (Jinfu dkk, 2001).

#### 2.1.5 Patogenesis

*Entamoeba gingivalis* dapat bersifat patogen, yaitu karena secara mikroskopis memperlihatkan adanya fagositosis nukleus sel darah merah dan sel darah putih oleh organisme ini. Gambaran umumnya sama dengan *E. histolytica* yang bersifat patogen yaitu: invasi ke jaringan melalui epitel sulkus gingiva, melekat dan membuat kontak yang erat antara parasit dan sel target untuk melakukan sitolisis (Bonner, 2005).

Sejalan dengan penelitian diatas, Lyons (2005) menyatakan, *E. gingivalis* memfagosit sitoplasma dan nukleus sel darah putih. Proses fagositosis tersebut diawali dari membuat perlekatan dengan sel darah putih, kemudian memfagosit sitoplasma. Fagositosis tidak hanya pada sitoplasma, tetapi juga inti dari sel darah putih. Selain itu *E. gingivalis* juga menyerang sel darah merah dan menghisap hemoglobin. Proses fagositosis sel darah merah dan sel darah putih ini terlihat melalui gambaran dari *photomicrograph*.

Menurut Jinfu dkk (2001), *E. gingivalis* juga dapat memperparah keadaan periodontitis, abses periodontal, dan resorpsi tulang alveolar pada tubuh dengan keadaan imun yang rendah.

## **2.2 Radang**

Radang atau yang biasa disebut inflamasi adalah respons protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung (sekuester) baik agen pendera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland, 1998: 926). Radang yang merupakan respons terhadap cedera, secara lebih khusus merupakan reaksi vaskular yang hasilnya adalah pengiriman cairan, zat-zat yang terlarut, dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstitial pada daerah cedera atau nekrosis (Price dan Wilson, 1994: 34). Menurut Robbins dan Kumar (1995: 28) radang ialah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas, dimana dalam reaksi ini ikut berperan juga pembuluh darah, saraf, cairan dan sel-sel tubuh di tempat jejas.

Radang dibagi menjadi dua macam, yaitu:

### **1. Radang Akut**

Radang akut adalah respons langsung dari tubuh terhadap cedera atau kematian sel (Price dan Wilson, 1994: 37). Radang ini merupakan awal atau perubahan dini, terjadi dalam beberapa jam atau hari, dan menunjukkan usaha tubuh untuk menghancurkan atau menetralkan agen penyebab (Lawler dkk, 1992: 9). Penyebab utama radang akut adalah infeksi mikrobial (misalnya bakteri piogenik,

virus), reaksi hipersensitivitas (misalnya parasit, basil tuberkulosis), agen fisik (trauma, radiasi pengion, panas, dingin), kimiawi (korosif, asam, basa, agen pengurang, toksin bakteri), dan jaringan nekrosis atau infark iskemik (Underwood, 1999: 232). Penyebab lain dari radang akut adalah reaksi imunologis. Contoh reaksi imunologis yang dapat menyebabkan terjadinya radang akut adalah kompleks imun (Lawler dkk, 1992: 9).

Gambaran makroskopis radang akut menurut Price dan Wilson (1994: 37):

a. *Rubor* ( kemerahan )

Rubor atau kemerahan biasanya merupakan hal pertama yang terlihat di daerah yang mengalami peradangan pada saat peradangan mulai timbul. Arteriol yang mensuplai daerah peradangan melebar sehingga lebih banyak darah yang mengalir ke dalam mikrosirkulasi lokal kapiler-kapiler yang sebelumnya kosong atau terisi sebagian meregang dengan cepat dan terisi penuh oleh darah. Keadaan ini disebut hiperemia atau kongesti yang menyebabkan warna merah lokal karena peradangan akut. Timbulnya hiperemia pada permulaan reaksi peradangan diatur oleh tubuh baik secara neurogenik maupun secara kimia, melalui pengeluaran zat seperti histamin.

b. *Kalor* ( panas )

Kalor atau panas, terjadi bersamaan dengan kemerahan dari reaksi peradangan akut. Pada dasarnya panas merupakan sifat reaksi peradangan yang hanya terjadi pada permukaan tubuh, dalam keadaan normal lebih dingin dari 37° C, yaitu suhu didalam tubuh. Daerah peradangan pada kulit menjadi lebih panas dari sekelilingnya, sebab darah ( pada suhu 37° C ) yang disalurkan tubuh ke permukaan daerah yang terkena lebih banyak daripada yang disalurkan ke daerah normal.

c. *Dolor* ( rasa sakit )

Dolor atau rasa sakit dari reaksi peradangan dapat dihasilkan dengan berbagai cara. Perubahan pH lokal atau konsentrasi lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung saraf. Pengeluaran zat kimia tertentu seperti histamin atau zat kimia bioaktif lainnya

dapat merangsang saraf. Selain itu pembengkakan jaringan yang meradang mengakibatkan peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa sakit.

d. *Tumor* ( pembengkakan )

Pembengkakan ditimbulkan oleh pengiriman cairan dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstisial. Campuran dari cairan dan sel yang tertimbun di daerah peradangan disebut eksudat. Pada keadaan ini reaksi peradangan sebagian besar eksudat adalah cair. Kemudian leukosit meninggalkan aliran darah, dan tertimbun sebagai bagian dari eksudat.

e. *Functio laesa* (gangguan fungsi)

*Functio laesa* atau perubahan fungsi adalah reaksi peradangan yang ditandai dengan nyeri disertai sirkulasi abnormal, lingkungan kimiawi lokal yang abnormal, dan berfungsi secara abnormal.

Tahap-tahap mikroskopis radang akut:

- a. konstiksi arterioler sementara, disebabkan oleh refleks neurogenik setempat, bisa berkembang, tetapi hanya bertahan beberapa menit;
- b. dilatasi arterioler berkepanjangan;
- c. kenaikan aliran darah setempat (hiperemia) dan dilatasi kapiler setempat;
- d. Kenaikan permeabilitas kapiler;
- e. Melambatnya aliran darah kapiler dan hemokonsentrasi intra vaskuler. Kenaikan konsentrasi protein plasma menghasilkan peningkatan viskositas darah;
- f. Hilangnya aliran darah aksial normal;
- g. Penebaran leukosit (perataan tepi endotel);
- h. Pengumpulan sel-sel darah merah ke tengah membentuk *rouleaux*;
- i. Terjadi perlekatan leukosit ke sel endotel kapiler;
- j. Perpindahan akut oleh gerakan amuboid ke dalam jaringan perivaskular melalui celah-celah diantara sel endotel;
- k. Khemotaksis, suatu proses dimana sel ditarik menuju ke substansi kimia tertentu yang konsentrasinya lebih tinggi;

- l. akumulasi sejumlah leukosit ditempat yang sesuai, yang terbesar adalah polimorfonukler neutrofil;
- m. fagositosis adalah fungsi utama leukosit yaitu penelanan, pencernaan, pembuangan benda-benda asing tertentu, khususnya bakteri dan sel-sel rusak (Lawler dkk,1992: 10).

Radang akut mempunyai efek lokal dan sistemik; keduanya dapat merugikan atau menguntungkan. Efek lokal radang akut pada umumnya bermanfaat, misalnya penghancuran terhadap mikroorganisme yang invasi ke dalam tubuh. Secara mikroskopis, pada radang akut terjadi penempelan polimorfonuklear neutrofil secara adhesi pada endotel pembuluh darah dimana terjadi radang. Proses ini dikenal sebagai *pavementing* (Underwood, 1999: 242).

## 2. Radang Kronis

Radang kronis adalah perubahan yang berlangsung sampai berminggu, bulan atau bahkan bertahun, ini menunjukkan usaha tubuh untuk melokalisasi agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi (Lawler dkk,1992: 11). Radang ini disebabkan oleh rangsang yang menetap, seringkali selama beberapa minggu atau bulan, menyebabkan infiltrasi mononuklear dan proliferasi fibroblas (Robbins dan Kumar, 1995: 43).

Penyebab radang kronis primer adalah penolakan seluler, seperti pada transplantasi ginjal, mengikutsertakan infiltrasi sel radang kronis. Radang kronis dapat timbul dari radang akut jenis supuratif (Underwood, 1999: 247).

Menurut Underwood (1999: 247), gambaran makroskopis radang kronis adalah:

- a. ulkus kronis, seperti ulkus peptik lambung dengan luka pada mukosa;
- b. rongga abses kronis, misalnya osteomielitis;
- c. penebalan dinding rongga viskus oleh jaringan fibrosa bersamaan dengan adanya infiltrat sel radang kronik;
- d. radang granulomatosa;



- e. fibrosis, merupakan struktur utama reaksi radang kronis, setelah sebagian besar sel radang kronis menghilang.

Gambaran mikroskopis radang kronis memperlihatkan infiltrat seluler yang terdiri dari limfosit, sel plasma dan makrofag. Beberapa eosinofil polimorf mungkin dapat ditemukan, tetapi neutrofil polimorf sangat jarang. Beberapa makrofag dapat membentuk sel *datia* berinti banyak. Cairan eksudat sedikit ditemukan, tetapi mungkin ditemukan produksi jaringan ikat baru yang berasal dari jaringan granulasi. Mungkin juga ditemukan kerusakan jaringan yang berkelanjutan, bersamaan dengan proses regenerasi dan perbaikan jaringan juga dapat terjadi nekrosis (Underwood, 1999: 248).

#### 2.2.1 Radang Gingiva

Radang gingiva disebut juga gingivitis, yaitu peradangan yang mengenai hanya jaringan gingiva (Dorland, 1998: 771). Gingiva adalah bagian mukosa rongga mulut yang mengelilingi gigi dan menutupi linggir (*ridge*) alveolar. Merupakan bagian dari aparatus gigi, periodonsium, dan dengan membentuk hubungan dengan gigi, gingiva berfungsi melindungi jaringan dibawah perlekatan gigi terhadap pengaruh lingkungan rongga mulut (Manson dan Eley, 1993: 1).

Gingiva yang sehat berwarna merah muda, tepinya seperti pisau dan *scalop* agar sesuai dengan kontur gigi-geligi. Warnanya dapat bervariasi tergantung pada jumlah pigmen melanin pada epitelium, derajat keratinisasi epitelium, dan vaskularisasi dan sifat fibrosa dari jaringan ikat dibawahnya. Tepi gingiva membentuk *cuff* selebar 1-2 mm disekitar leher gigi dan dinding eksternal leher gingiva yang mempunyai kedalaman 0-2 mm. *Cuff* dapat dipisahkan dari gigi dengan menggunakan sonde tumpul (Manson dan Eley, 1993: 2-3).

Pada gingiva normal, sel plasma dan limfosit ditemukan disekitar jaringan ikat dekat dasar sulkus. Neutrofil dapat terlihat relatif lebih banyak baik pada jaringan ikat gingiva maupun pada sulkus. Sel radang ini selalu ada dalam jumlah kecil pada gingiva normal (Carranza dkk, 2002: 27).



(Anonim, 2007b)

Gambar 2.2. Gambaran klinis gingiva sehat

Gingiva yang mengalami peradangan secara klinis akan mengalami perubahan antara lain: adanya *bleeding on probing*, perubahan warna pada gingiva, perubahan konsistensi, perubahan tekstur, perubahan posisi, perubahan kontur, dan adanya nyeri.

*Bleeding on probing* adalah adanya perdarahan saat dilakukan probing pada sulkus gingiva. Keadaan ini merupakan salah satu dari dua tanda awal radang gingiva selain peningkatan cairan krevikular gingiva (Carranza dkk, 2002: 271).

Perubahan warna merupakan tanda klinis yang penting pada penyakit gingiva. Warna gingiva normal adalah *coral pink* dan berasal dari vaskularisasi jaringan yang dimodifikasi oleh lapisan epitel. Karena itu, gingiva dapat menjadi lebih merah jika terdapat peningkatan vaskularisasi atau karena derajat keratinisasi epitel menurun atau hilang. Warna gingiva menjadi lebih pucat jika vaskularisasinya menurun (berhubungan dengan fibrosis dari *corium*) atau karena keratinisasi epitel meningkat. Pada peradangan kronis warna gingiva menjadi merah atau merah kebiruan karena adanya proliferasi vaskular atau penurunan keratinisasi pada epitel oleh karena inflamasi jaringan. Selanjutnya, aliran vena yang macet akan menyebabkan warna kebiruan. Warna gingiva berubah dengan meningkatnya kekronisan dari proses inflamasi. Perubahan berawal dari interdental papil dan margin gingiva kemudian menyebar ke *attached gingiva*. (Carranza dkk, 2002: 272-273).

Konsistensi dari gingiva dapat mengalami perubahan saat terjadi radang. Perubahan konsistensi ini tergantung dari besarnya destruksi dan reparasi dari jaringan ikatnya. Jika destruksi lebih besar dari pada reparatifnya (*odem*) maka konsistensinya akan menjadi lunak. Sebaliknya jika proses reparasinya (fibrotik) lebih besar dari pada destruktifnya maka konsistensinya akan lebih keras (Carranza dkk, 2002: 274).

Perubahan tekstur dari gingiva yang mengalami radang terjadi karena hilangnya *stippling*. Permukaan gingiva dapat berubah menjadi halus dan mengkilat saat radang. Hal ini tergantung dari perubahan apa yang lebih dominan antara eksudasi (destruktif) dan fibrotik (reparasi). Permukaan yang halus dan mengkilat terbentuk dari epitel yang atrofi Carranza dkk, 2002: 274).

Posisi dari gingiva dapat mengalami perubahan saat radang. Gingiva dapat berpindah ke arah apikal dan menyebabkan permukaan akar terbuka; keadaan ini disebut resesi. Perubahan klinis yang lain yaitu adanya perubahan kontur gingiva. Margin gingiva dan interdental papil dapat mengalami perubahan saat radang. Perubahan kontur sering dihubungkan dengan adanya *enlargement* (Carranza dkk, 2002: 275-277).

Etiologi utama dari radang gingiva adalah bakteri plak. Bakteri plak menyebabkan peradangan karena memproduksi beberapa faktor yang dapat menyerang jaringan, baik secara langsung maupun tidak langsung dengan cara merangsang reaksi kimia dan inflamasi. Dalam menimbulkan kerusakan, bakteri harus berkolonisasi pada leher gingiva dengan menyerang pertahanan hospes, merusak barier krevikular epitelial, atau memproduksi substansi yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan baik secara langsung maupun tidak langsung. Kemampuan bakteri untuk menyerang pertahanan hospes antara lain: menyebabkan kerusakan langsung pada PMN dan makrofag, mengurangi khemotaksis PMN, degradasi imunoglobulin, degradasi fibrin, dan merubah fungsi limfosit (Manson dan Eley, 1993: 55).

Perkembangan radang gingiva terjadi dalam beberapa tahapan berbeda (Carranza dkk, 2002: 263).

1. *Initial lesion*

Pada *initial lesion* terjadi perubahan vaskular yang meliputi dilatasi kapiler dan peningkatan aliran darah. Perubahan inflamasi awal ini terjadi karena respons aktivasi mikroba oleh leukosit dan kemudian stimulasi dari sel endotel. Secara mikroskopis gambaran klasik dari radang akut terlihat pada jaringan ikat di bawah *junctional epithelium* (Carranza dkk, 2002: 263). Peningkatan migrasi leukosit terlihat melalui *junctional epithelium* dan eksudat cairan jaringan dari leher gingiva (Manson dan Eley 1993: 81). Tahap ini terjadi dalam 4 hari setelah akumulasi plak dimulai. Pada tahap ini tidak tampak gejala klinis dari peradangan yang nampak (Wilson dkk, 1992:106).

2. *Early lesion*

Terjadi 7 hari setelah akumulasi plak dan dapat menetap untuk waktu yang lama (Wilson dkk, 1992: 107). Pada tahap ini, *bleeding on probing* dapat terlihat jelas. Pemeriksaan mikroskopis memperlihatkan adanya infiltrasi leukosit pada jaringan ikat di bawah *junctional epithelium* yang mengandung sebagian besar limfosit (75%, dengan sebagian besar sel T) tetapi masih terdapat migrasi neutrofil, makrofag, sel plasma dan sel mast (Carranza dkk, 2002: 264).

3. *Established lesion*

Dalam waktu 2-3 minggu, akan terbentuk radang gingiva (gingivitis) yang lebih parah. Secara mikroskopis sel-sel plasma terlihat mendominasi. Limfosit masih tetap ada dan jumlah makrofag meningkat (Manson dan Eley, 1993: 82). Pada tahap ini, *junctional epithelium* dan epitel sulkus banyak terinfiltrasi oleh PMN (Wilson dkk, 1992:107). Secara klinis, gingiva terlihat kemerahan dan kebiru-biruan. Hal ini disebabkan oleh ekstrasvasasi dari sel darah merah ke jaringan ikat dan pecahan hemoglobin masuk ke komponen pigmen, sehingga dapat menggelapkan warna dari radang gingiva yang kronis (Carranza dkk, 2002: 265-266).

#### Tahap 4: *Advanced lesion*

Perluasan lesi sampai tulang alveolar, atau disebut fase kerusakan periodontal (Carranza dkk, 2002: 267).



(Anonim, 2007b)

Gambar 2.3. Gambaran klinis gingiva radang

### 2.3 Leukosit

Leukosit adalah berbagai jenis sel darah putih yang bersama-sama memiliki nukleus dan tidak berwarna dalam keadaan segar (Bloom dan Fawcett, 2002:105). Sel ini bertanggung jawab atas berbagai pertahanan imun (Ganong, 2001: 502). Jumlah leukosit rata-rata dalam darah manusia antara 5000-9000 permililiter kubik darah (Leeson dkk, 1996: 161). Semua leukosit darah normal, kecuali limfosit, berasal dari sumsum tulang semata. Limfosit terbentuk pula di bagian tubuh lain, seperti lien, timus dan kelenjar getah bening (Sodeman, 1995: 228). Sel darah putih yang dibentuk dalam sum-sum tulang, terutama granulosit, disimpan dalam sumsum sampai mereka diperlukan dalam sirkulasi (Guyton dan Hall, 1997: 544)

Secara garis besar leukosit dibagi dalam 2 kategori umum antara lain: (1) leukosit granular dan (2) leukosit agranular (Cormack, 1994: 258). Leukosit granular antara lain : neutrofil, basofil dan eosinofil; sedangkan leukosit agranular antara lain : limfosit dan monosit (Leeson dkk, 1996: 162).

Leukosit granular mempunyai bentuk inti tidak teratur dan terdiri dari dua jenis granula : (1) granula spesifik yaitu granula yang spesifik terikat pada unsur netral atau asam dari campuran pewarna dan memiliki fungsi khusus, dan (2) granula azurofilik berwarna ungu dan diperkirakan sebagai lisosim yang mengandung enzim. Leukosit agranuler tidak memiliki granula spesifik namun memiliki granula azurofilik bervariasi yang berikatan dengan pewarna azure dari pulsan (Junquiera dkk, 1997: 230).

Jenis leukosit yang berperan sebagai sel radang akut adalah PMN dan makrofag. PMN merupakan sel yang sangat motil, mempunyai banyak lisosom untuk mencernakan bakteri juga sel-sel yang sudah tidak berguna lagi dan berumur pendek. Makrofag (monosit yang berada di jaringan) yang paling utama, kurang motil, mengandung lebih sedikit lisosom dan menghilangkan debris termasuk polimorf mati, bakteri dan fibrin (Lawler dkk, 1992: 10).

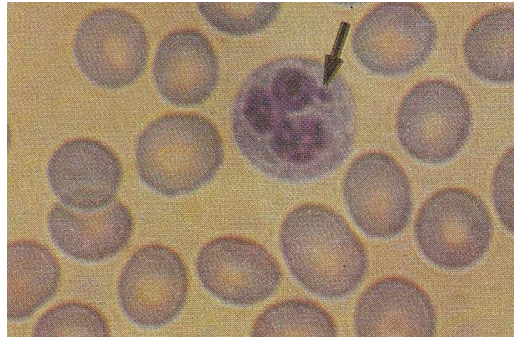
Jenis leukosit yang berperan dalam radang kronis antara lain limfosit dan sel plasma (PMN neutrofil dalam radang akut) yang memberikan reaksi pertahanan imunologis humoral dan seluler setempat, ada pula makrofag yang memfagosit dan membersihkan sisa-sisa jaringan setempat, kadang-kadang membentuk sel raksasa berinti banyak (*multinucleated giant cell*). Kadang-kadang ditemukan polimorf eosinofil khususnya dalam reaksi parasit dan reaksi hipersensitifitas. Sel-sel dari jaringan terutama adalah fibroblas yang berproliferasi dan sel-sel endotel yang membatasi kapiler, keduanya selalu ditemukan bersama dan membentuk jaringan granulasi ( Lawler dkk, 1992: 12).

### 2.3.1 Polimorfonuklear Neutrofil

Polimorfonuklear neutrofil (PMN neutrofil) adalah nama lain dari neutrofil, karena adanya bentuk nukleus yang bervariasi yang menjadi dasar nama lain bagi jenis sel ini (Bloom dan Fawcett, 2002: 106). PMN neutrofil merupakan leukosit granular yang memiliki nukleus dengan 3-5 lobus yang dihubungkan dengan benang

kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus (Dorland, 1998:775).

Sitoplasma dari PMN neutrofil mengandung dua jenis granula. Granula yang lebih banyak adalah granula spesifik, yang merupakan granula-granula kecil yang memperlihatkan berbagai bentuk (bulat sampai panjang). Granula kedua neutrofil adalah granula azurofilik. Granula ini adalah lisosom primer dan mengandung beberapa enzim. PMN neutrofil juga mengandung glikogen di dalam sitoplasma. Kedua granular tersebut penting untuk menghancurkan zat asing dan mikroorganisme secara proses fagositosis (Junquiera dkk, 1997: 234).



Tanda anak panah menunjukkan polimorfonuklear neutrofil mempunyai inti bersegmen (berlobus) dan lobus-lobus itu saling berhubungan melalui filamen (Leeson dkk, 1993).

Gambar 2.4: Polimorfonuklear neutrofil

PMN neutrofil merupakan sel pertahanan tubuh yang muncul pertama kali dalam jumlah besar di dalam eksudat pada jam-jam pertama peradangan. Sel-sel ini memiliki urutan perkembangan di dalam sumsum tulang, perkembangan ini kira-kira membutuhkan waktu 2 minggu. Bila mereka dilepaskan dalam sirkulasi darah, maka waktu paruhnya dalam sirkulasi kira-kira 6 jam. Per milimeter kubik darah terdapat kira-kira 5000 PMN neutrofil. Sekitar 100 kali dari jumlah tersebut tertahan dalam sumsum tulang sebagai bentuk matang yang siap untuk dikeluarkan apabila ada sinyal (Price dan Wilson, 1994: 44).

Kinetika granulosit sangat rumit karena melibatkan tiga kompartemen yang harus dipertimbangkan yaitu: sumsum tulang, darah, dan jaringan. Pada inflamasi

supaya keadaan seimbang tetap terpelihara terdapat beberapa tuntutan untuk PMN neutrofil masak menggantikan yang hilang di jaringan yang cedera dengan memelihara ukuran granulosit total. Sebagai akibatnya granulosit meningkat dan jauh diatas normal sehingga terdapat jumlah PMN neutrofil yang berlebihan dalam peredaran darah atau leukositosis (Spector dan Spector, 1993:96).

PMN neutrofil merupakan sel pertama yang nampak dalam ruang perivaskular, pada setiap keadaan radang. Munculnya PMN neutrofil ini biasanya disusul oleh monosit (Robins dan Kumar, 1995: 33). Keberadaan PMN neutrofil pada jaringan yang terinflamasi terlihat dari pemeriksaan mikroskopis, yaitu tampak adanya PMN neutrofil pada jaringan tersebut. Mereka mudah teridentifikasi dari multipel lobus pada nukleusnya dan dari granula sitoplasmanya. Sel ini memiliki banyak fungsi penting termasuk fagositosis dan pengeluaran mediator kimia ekstraseluler (Anonim, 2005).

PMN neutrofil mampu bergerak aktif seperti amuba dan mampu menelan berbagai zat dengan proses yang disebut fagositosis. Neutrofil akan mendekati partikel yang akan difagosit, mengalirkan sitoplasmanya mengelilingi partikel itu , dan akhirnya mengambil partikel ke dalam bungkus sitoplasma pada vesikel terikat membran yang menonjol keluar dari membran neutrofil. Proses fagositosis dibantu oleh zat-zat tertentu yang melapisi objek untuk dicernakan dan membuat lebih mudah dimasukkan oleh leukosit (Robbins dan Kumar, 1995: 44).

Granula dari PMN neutrofil mengandung substansi antibakterial termasuk lysosomal, hidrolase, lizosim, dan peroksidase. Selama proses fagositosis , kekuatan enzim anti mikrobal yang dikeluarkan sering mengganggu integritas sel itu sendiri (Turgeon,1996: 36).

Tugas lain dari PMN neutrofil dalah mematikan partikel yang telah difagosit. Perannya dalam mematikan agen-agen yang hidup itu diselesaikan melalui berbagai cara yaitu: perubahan pH dalam sel setelah fagositosis, melepaskan zat-zat antibakteri ke dalam vakuola fagositosis, dan pembentukan zat antibakteri seperti



hidrogen peroksida sebagai hasil proses metabolisme sel yang dimulai setelah fagositosis (Price dan Wilson, 1994: 44).

#### **2.4 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemaparan *E. gingivalis* berpengaruh terhadap jumlah polimorfonuklear neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva.

## **BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris, dengan rancangan penelitian *post tes only control group design* (Pratiknya, 2001 : 10).

### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik bagian Parasitologi dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### 3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian pada bulan Mei 2006

### **3.3 Identifikasi Variabel Penelitian**

#### 3.3.1 Variabel Bebas

*Entamoeba gingivalis*

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Jumlah polimorfonuklear neutrofil

#### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Jenis tikus
- b. Berat badan tikus
- c. Jenis kelamin tikus
- d. Umur tikus

- e. Makanan dan minuman tikus
- f. Volume *E.gingivalis*
- g. Cara pemaparan *E. gingivalis*

### **3.4 Definisi Operasional Variabel**

#### 3.4.1 *Entamoeba gingivalis*

*E. gingivalis* adalah parasit yang ditemukan dalam rongga mulut manusia terutama pada gigi berlubang dan sulkus gingiva, serta di jaringan gingiva sekitar gigi khususnya pada keadaan radang atau bernanah. Pada parasit ini secara mikroskopis ditemukan trophozoit berukuran 5-35 mikron dan diameternya 10-20 mikron, terdapat satu buah nukleus dengan kariosom sentris, serta memiliki pseudopodia.

#### 3.4.2 Jumlah Polimorfonuklear Neutrofil

Jumlah polimorfonuklear neutrofil adalah banyaknya sel polimorfonuklear neutrofil yang tampak pada hapusan darah dalam 100 sel, dihitung pada hari ke-4 dan 7 kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Polimorfonuklear neutrofil merupakan leukosit granular yang memiliki nukleus dengan 3-5 lobus yang dihubungkan dengan dua kromatin dan sitoplasmanya mengandung dua jenis granula (granula spesifik dan granula azurofilik).

### **3.5 Sampel Penelitian**

#### 3.5.1 Kriteria Sampel

- a. Tikus *Wistar* berjenis kelamin jantan
- b. Berat 140-240 gram
- c. Berusia 2-3 bulan
- d. Tikus dalam keadaan sehat.

### 3.5.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus dari Steel dan Torrie (1995: 146)

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2_D}{\delta^2}$$

Keterangan :

$n$  : besar sampel minimal

$Z_{\alpha}$  : batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)

$Z_{\beta}$  : batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)

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

$\alpha$  : tingkat signifikan (0,20)

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

$$P = 1 - \beta$$

$B$  : 0,20

Penghitungan besar sampel:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2_D}{\delta^2}$$

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

$$n = 7,896$$

$$n = 8$$

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

### 3.5.3 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dengan menggunakan teknik *simple random sampling*, yaitu pengambilan sampel secara acak dari populasi yang ada (Pratiknya, 2001 : 66).

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

- a. Kawat dengan diameter 0,15mm untuk ligasi gigi insisivus rahang bawah tikus *Wistar*
- b. Kandang yang terbuat dari ember plastik persegi empat berukuran 41x32x11cm dengan tutup dari anyaman kasa
- c. Tempat makan dan minum untuk tikus
- d. Timbangan untuk menimbang tikus (Neraca Ohaus, *Germany*)
- e. Sarung tangan (Latex)
- f. Mikroskop binokuler (Leica, *USA*)
- g. *Object glass* dan *deck glass*
- h. *Disposable syringe* 1 ml (Terumo, *Japan*)
- i. Masker
- j. Gunting
- k. Pinset
- l. *Leukocyte counter*

#### 3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus *Wistar* jantan
- b. Makanan standar untuk tikus *Wistar* yang beredar di pasaran yaitu jenis konsentrat (Feedmill Malindo, Gresik)
- c. Minuman tikus *Wistar* yaitu air putih
- d. Cat Giemsa (Merck, *Germany*)
- e. Suspensi kultur murni *Entamoeba gingivalis*
- f. Larutan fisiologis
- g. Minyak emersi (Merck, *Germany*)

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Hewan coba tikus *Wistar jantan* diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember selama 1 minggu.
- b. Tikus diberi makan standar dan air minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya).
- c. Tikus ditimbang sebelum dan sesudah proses adaptasi.
- d. Tikus dikelompokkan secara acak menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan perlakuan masing-masing berjumlah 8 ekor.

#### 3.7.2 Tahap Perlakuan

- a. Kelompok kontrol dan perlakuan diligasi pada leher gigi insisiv rahang bawah menggunakan kawat dengan diameter 0,15mm. Kelompok kontrol satu hari setelah ligasi ke dalam sulkus gingiva disemprot larutan fisiologis 0,2 ml, sedangkan untuk kelompok perlakuan satu hari setelah ligasi disemprot *E. gingivalis* 0,2 ml. Perlakuan ini masing-masing dilakukan selama 6 hari.
- b. Pada hari ke-4 dan ke-7 dibuat hapusan darah.

#### 3.7.3 Prosedur Pembuatan Hapusan Dra

- a. Setetes darah diambil dari ekor tikus dengan cara membuat sayatan pada ekornya, kemudian diletakkan 1 cm dari satu ujung *object glass*.
- b. *Deck glass* dipegang sedemikian rupa sehingga membuat sudut  $\pm 30^\circ$  dengan *object glass* dan tetesan darah terletak dalam sudut tersebut.
- c. *Deck glass* digeser ke arah tetesan darah, sehingga menyentuhnya dan darah tadi akan dibiarkan merata antara ujung *deck glass* dan *object glass*.
- d. Dengan cepat *deck glass* digeser ke arah berlawanan dengan arah pertama sehingga darah akan merata di atas *object glass* sebagai lapisan yang tipis.
- e. Hapusan segera dikeringkan dengan menggerak-gerakkan di udara atau dapat dipakai kipas angin. Jangan ditiup dengan hembusan nafas.

- f. Tebalnya lapisan darah tergantung dari: besarnya tetesan darah, cepatnya menggeserkan *deck glass*, dan sudut antara *deck glass* dan *object glass*. Gerakan yang pelan atau sudut yang lebih kecil dari  $30^\circ$  akan menghasilkan lapisan darah yang tipis dan sebaliknya pergeseran yang cepat atau sudut yang lebih besar dari  $30^\circ$  akan menghasilkan lapisan darah yang tebal.
- g. Leukosit-leukosit tidak boleh menggerombol di bagian dari hapusan (*feather edge*). Bila ini terjadi maka distribusi dari macam-macam leukosit tidak representatif. Gerakan yang terlalu pelan atau *deck glass* yang kotor dapat menyebabkan kesalahan ini.
- h. Mengeringkan hapusan dengan segera penting sekali. Bila tidak leukosit-leukosit akan mengkerut.

#### 3.7.4 Prosedur Pengecatan Hapusan Darah

- a. Hapusan yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan cat *Giemsa* pada hapusan darah, sehingga tertutup seluruhnya. Waktu fiksasi  $\pm 2$  menit.
- b. Pengecatan dilakukan dengan meneteskan larutan buffer yang sama banyaknya pada cat *Giemsa* tadi. Buffer dan cat *Giemsa* segera dicampur dengan jalan meniup-niup beberapa kali. Tunggu  $\pm 20$  menit agar sel-sel tercat dengan baik dan terbentuk *Metallic Scum*.
- c. Hapusan dicuci dengan aquades atau air biasa dengan cara menuangkan aquades pada hapusan yang berada di atas rak sehingga semua cat hanyut.
- d. Hapusan diletakkan pada sisinya dan ditunggu sampai kering. Jangan mengeringkan hapusan di atas kertas saring, kapas dan sebagainya.

#### 3.7.5 Prosedur Pemeriksaan Hapusan Darah

Pemeriksaan hapusan darah terdiri atas :

- a. Pemeriksaan dengan pembesaran kecil (100 kali) :
  - 1) Penilaian kualitas hapusan darah.

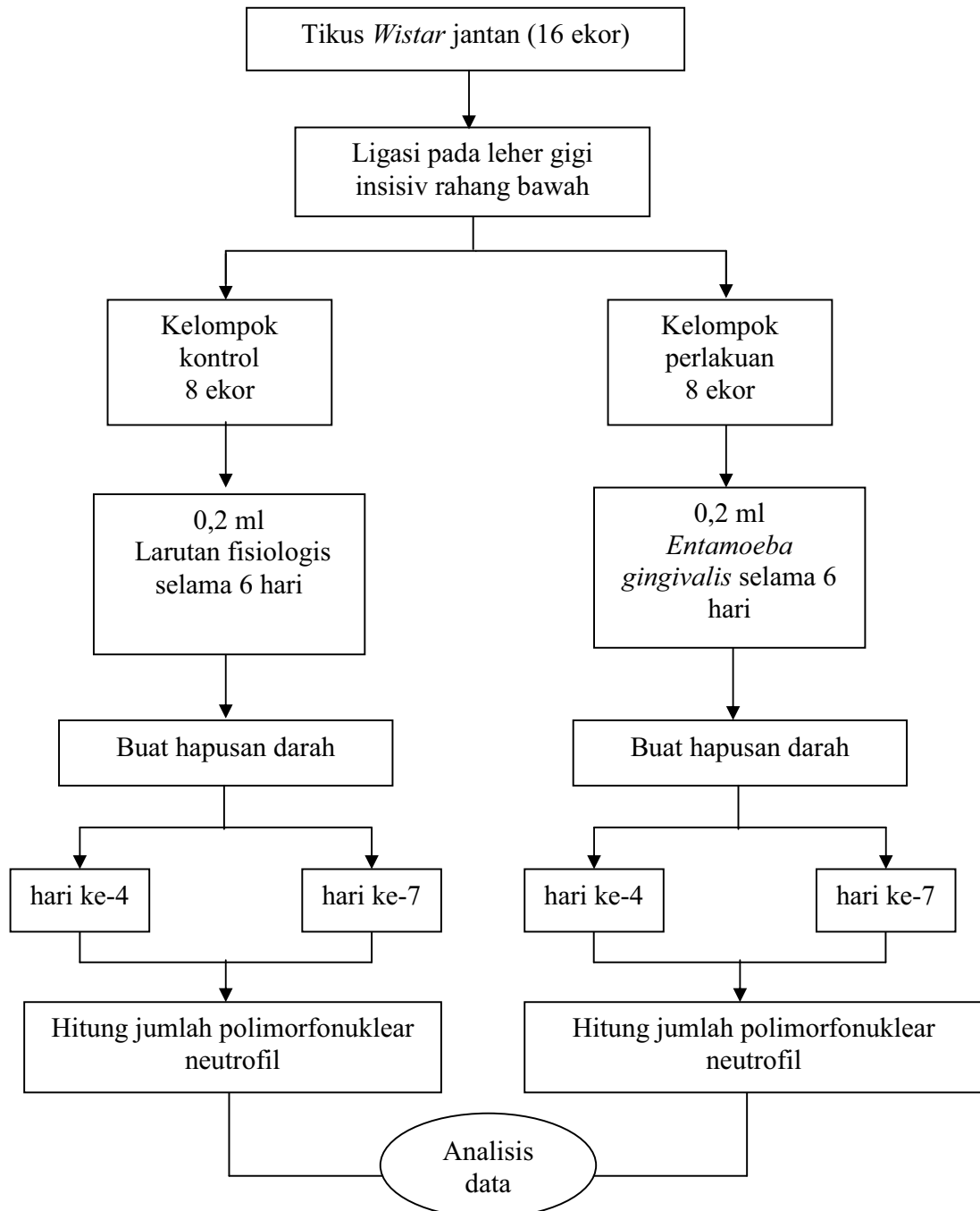
- 2) Penafsiran jumlah leukosit dan pemeriksaan apakah sel-sel yang abnormal.
- b. Pemeriksaan dengan menggunakan minyak emersi (perbesaran 1000 kali):
- 1) Penghitungan differensial leukosit.
  - 2) Dicari kelainan-kelainan morfologis.

### **3.8 Analisis Data**

Data yang diperoleh kemudian diuji distribusinya dengan uji *Kolmogorov Smirnov* dan homogenitasnya dengan *test of homogeneity of variance*. Jika data tersebut terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *independent t-test*.



### 3.9 Alur Penelitian



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

Hasil penelitian pengaruh pemaparan *Entamoeba gingivalis* terhadap jumlah polimorfonuklear neutrofil (PMN neutrofil) pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva terlihat pada tabel 4.1 dan tabel 4.2.

Tabel 4.1 Hasil penghitungan jumlah polimorfonuklear neutrofil pada hari ke-4

No	Jumlah PMN Neutrofil	
	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	64	58
2	61	56
3	64	58
4	59	57
5	63	62
6	69	57
7	74	60
8	59	54
Mean	64,1250	59,0000
SD	5,1391	4,3753

SD = *Standard Deviasi*

Mean = Rata-rata jumlah

Hasil pengamatan pada hari ke-4 terlihat bahwa pada kelompok perlakuan rata-rata jumlah PMN neutrofil lebih sedikit dibandingkan kelompok kontrol yaitu 59 dan 64,125.

Tabel 4.2 Hasil penghitungan jumlah polimorfonuklear neutrofil pada hari ke-7

No	Jumlah PMN Neutrofil	
	Kelompok Kontrol	Kelompok Perlakuan
1	31	30
2	23	24
3	27	17
4	23	27
5	19	32
6	23	17
7	17	21
8	18	25
Mean	22,6250	24,1250
SD	4,7189	5,5662

SD = *Standard Deviasi*

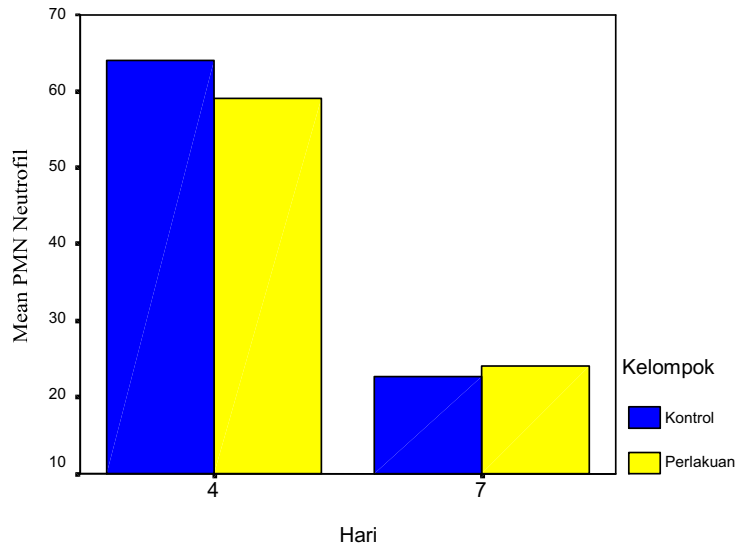
Mean = Rata-rata jumlah

Hasil pengamatan pada hari ke-7 memperlihatkan bahwa rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok perlakuan lebih banyak daripada kelompok kontrol, yaitu dengan rata-rata jumlah PMN neutrofil pada masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol adalah 24,125 dan 22,625.

Tabel 4.3. Rata-rata jumlah polimorfonuklear neutrofil pada hari ke-4 dan ke-7

Kelompok	Jumlah rata-rata PMN	
	Hari ke-4	Hari ke-7
Kontrol	64,1250	22,6250
Perlakuan	59,0000	24,1250

Tabel 4.3 memperlihatkan rata-rata jumlah PMN neutrofil kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-4 dan ke-7. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa kedua kelompok rata-rata jumlah PMN neutrofilnya pada hari ke-4 lebih banyak daripada hari ke-7. Hal ini dapat terlihat lebih jelas pada gambar 4.6.



Gambar 4.5 Grafik rata-rata jumlah polimorfonuklear neutrofil pada hari ke-4 dan ke-7

Hasil penghitungan jumlah PMN neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva dari kelompok kontrol dan perlakuan dianalisis menggunakan uji statistik. Namun sebelum dilakukan uji statistik data hasil penelitian diuji distribusinya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*.

Tabel 4.4. Hasil uji normalitas

Kelompok	Asymp.sig.(2-tailed)	
	Hari ke-4	Hari ke-7
Kontrol	0,653	0,840
Perlakuan	0,852	0,994

Tabel 4.4 diatas menunjukkan bahwa nilai signifikansi jumlah PMN neutrofil pada masing-masing kelompok lebih besar dari 0,05 berarti data penelitian yang diperoleh berdistribusi normal.

Untuk mengetahui homogenitas dari data yang diperoleh, dilakukan *test of homogeneity of variance*, seperti terlihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil uji homogenitas

	Levene statistik	sig
hari ke-4	0,085	0,774
hari ke-7	0,373	0,551

Hasil uji homogenitas didapatkan probabilitas 0,774 ( $p>0,05$ ) pada hari ke-4 dan 0,551 ( $p>0,05$ ) pada hari ke-7, maka dapat disimpulkan bahwa data ditarik dari varian yang sama atau homogen.

Selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan *independent t-test*. Hasil *independent t-test* dapat dilihat pada tabel 4.6 dan 4.7.

Tabel 4.6 Hasil *independent t-test* jumlah polimorfonuklear neutrofil hari ke-4 dan ke-7

	Kontrol	Perlakuan
Sign. (2-tailed)	0,000	0,000

Tabel diatas memperlihatkan bahwa jumlah PMN neutrofil kelompok kontrol pada hari ke-4 dibandingkan dengan hari ke-7 memiliki perbedaan yang signifikan, karena nilai probabilitasnya yaitu 0,000 ( $p<0,05$ ). Begitu juga untuk kelompok perlakuan jika dibandingkan jumlah PMN neutrofil pada hari ke-4 dan hari ke-7 memiliki perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ). Jumlah PMN neutrofil kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-7 lebih rendah dibandingkan hari ke-4.

Tabel 4.7 Hasil *independent t-test* jumlah polimorfonuklear neutrofil kelompok kontrol dan perlakuan

	Hari ke-4	Hari ke-7
Sign. (2-tailed)	0,050	0,570

Berdasarkan tabel 4.6 terlihat bahwa nilai probabilitas untuk hari ke-4 adalah 0,050 ( $p=0,05$ ), artinya pada hari ke-4 jumlah PMN neutrofil antara kelompok kontrol dan perlakuan tidak ada perbedaan yang signifikan. Begitu juga untuk hari ke-7, nilai

probabilitasnya adalah 0,570 ( $p > 0,05$ ), yang artinya tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan.

#### 4.2 Pembahasan

Gingiva sehat dapat mengalami peradangan karena adanya bakteri plak. Bakteri plak tersebut memproduksi faktor-faktor yang dapat menyerang jaringan baik secara langsung maupun tidak langsung, dengan cara merangsang reaksi imun dan inflamasi. Secara langsung bakteri dapat menimbulkan kerusakan dengan berkolonisasi pada leher gingiva dan menyerang pertahanan hospes, merusak barier krevikular epitelial, atau memproduksi substansi yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan baik secara langsung maupun tidak langsung (Manson dan Eley, 1993:55).

Proses radang yang terjadi dalam penelitian ini dipicu dengan adanya *ligasi* atau pengikatan dengan *wire* pada leher gigi insisivus bawah dari hewan coba (tikus *Wistar* jantan). Ikatan tersebut dipakai selama periode penelitian dan digunakan sebagai alat retensi bagi bakteri plak (Takada, 2004: 313); dengan demikian akan terjadi akumulasi bakteri plak yang pada akhirnya dapat memudahkan timbulnya radang gingiva.

Pengamatan pertama ini dilakukan pada hari ke-4 karena pada saat itu terjadi tahap *initial lesion* dari radang gingiva. Pada tahap ini belum ada tanda klinis peradangan, tetapi sudah terjadi perubahan vaskular yaitu dilatasi kapiler dan peningkatan aliran darah (Wilson, dkk,1992: 106). Peningkatan migrasi leukosit terlihat melalui *junctional epithelium*. Pada keadaan ini sel pertahanan tubuh yang paling dominan adalah polimorfonuklear neutrofil (PMN neutrofil) yang kemudian segera beraksi dengan meninggalkan kapiler-kapiler dan bermigrasi melewati dinding pembuluh darah dengan cara diapadesis dan kemudian emigrasi (Carranza dkk, 2002: 263). Pengamatan berikutnya dilakukan pada hari ke-7, karena pada saat itu terjadi tahap *early lesion* dari radang gingiva (Wilson dkk,1992: 107).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok perlakuan hari ke-4 lebih tinggi dibandingkan dengan hari ke-7; begitu

juga rata-rata jumlah PMN neutrofil kelompok kontrol pada hari ke-4 lebih tinggi dibandingkan dengan hari ke-7. Jadi secara keseluruhan rata-rata jumlah PMN neutrofil masing-masing kelompok (kelompok perlakuan dan kontrol) semakin menurun.

Jumlah PMN neutrofil yang lebih tinggi pada hari ke-4, dikarenakan saat itu merupakan tahap *initial lesion*, dimana pada tahap ini sel pertahanan tubuh yang paling dominan adalah PMN neutrofil (Carranza dkk, 2002: 263). PMN neutrofil menjadi sel pertahanan dari leukosit yang pertama kali muncul, sebagian besar disebabkan oleh mobilitasnya yang tinggi dan juga karena PMN neutrofil terdapat dalam jumlah banyak pada sirkulasi darah. Selain itu faktor yang mempengaruhi ialah neutrofil telah aktif pada awal reaksi radang (Robbins dan Kumar, 1995: 33). Sel ini mempunyai banyak lisosom untuk mencernakan bakteri dan sel-sel yang sudah tidak berguna lagi dan berumur pendek (Lawler dkk, 1992: 10).

pada hari ke-7 yang merupakan tahap *early lesion*, dimana jumlah PMN neutrofil lebih rendah daripada hari ke-4, hal ini disebabkan pada tahap tersebut sel pertahanan tubuh yang paling dominan adalah limfosit (kira-kira 75%, dengan sebagian besar sel T), dan sisanya beberapa PMN neutrofil yang bermigrasi, seperti makrofag, sel plasma dan sel mast (Carranza dkk, 2002: 264).

Hasil analisis data menunjukkan rata-rata jumlah PMN neutrofil baik pada hari ke-4 maupun hari ke-7 antara kelompok kontrol dan perlakuan diketahui tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini berarti bahwa keberadaan *E. gingivalis* pada suatu radang gingiva tidak mempengaruhi jumlah PMN neutrofil baik pada tahap *initial lesion* maupun tahap *early lesion*.

Menurut Bonner (2005), *E. gingivalis* dapat bersifat patogen, karena memfagosit nukleus sel darah merah dan sel darah putih. Proses invasi *E. gingivalis* ke jaringan melalui epitel sulkus gingiva, kemudian melekat dan membuat kontak yang erat antara parasit dan sel target untuk melakukan sitolisis. Selain memfagosit nukleus sel darah putih, *E. gingivalis* juga memfagosit sitoplasma sel darah putih Lyons (2005).

Meskipun telah diketahui bahwa *E. gingivalis* dapat memfagosit leukosit, namun tidak dijelaskan apakah *E. gingivalis* memfagosit leukosit jenis PMN neutrofil. Seperti diketahui leukosit terbagi atas beberapa macam yaitu monosit, limfosit, polomorfonuklear neutrofil, basofil, dan eusinofil. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya pengaruh dari *E. gingivalis* terhadap jumlah PMN neutrofil. Perolehan hasil ini kemungkinan *E. gingivalis* tidak memfagosit leukosit jenis PMN neutrofil. Atau mungkin karena PMN neutrofil memiliki mobilitas yang tinggi dan terdapat dalam jumlah yang banyak dalam sirkulasi darah (Robbins dan Kumar, 1995: 33).

Tidak adanya pengaruh *E. gingivalis* terhadap jumlah PMN neutrofil mungkin juga dipengaruhi oleh tempat pengambilan darah yang diperiksa. Pada penelitian ini darah yang diperiksa diambil dari darah tepi pada ekor, padahal pemaparan *E. gingivalis* hanya pada gingiva yang mengalami peradangan; sehingga leukosit yang dipengaruhi oleh *E. gingivalis* kemungkinan besar hanya pada gingiva yang mengalami peradangan.



## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah bahwa pemaparan *Entamoeba gingivalis* tidak mempengaruhi jumlah polimorfonuklear neutrofil pada tikus *Wistar* jantan dengan radang gingiva.

### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian dimana pengambilan darah untuk pemeriksaan polimorfonuklear neutrofil dilakukan pada daerah yang dipapar *Entamoeba gingivalis*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berkaitan dengan pengaruh *Entamoeba gingivalis* terhadap jenis sel darah putih yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2005. *Inflamation*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Inflammation/20:11> [2 November 2005].
- Anonim. 2007a. *Classification*. <http://sn2000.taxonomy.nl/Parker/1982/Classification/1078.htm> [11 Februari 2007].
- Anonim. 2007b. *The Gums*. [www.dental-health-indomex.c](http://www.dental-health-indomex.c) [ 11 Februari 2007].
- Bloom, J.P. dan Fawcett, Isbister. 2002. "Histology". Disadur Devy H, Ronardi. *Histologi*. Edisi I. Jakarta: EGC.
- Bonner, Mark. 2005. *Entamoeba gingivalis, a Pathogen similar to E. histolytica*. <http://homepages.ishtm.ac.uk/entamoeba/embo/bonner.htm>. [19 Oktober 2005].
- Carranza, F.A., Takei, H.H. dan Newman, M.G. 2002. *Clinical Periodontology*. 9<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: WB Saunders Company.
- Cormack, David H. 1994. "Histology", Disadur Jan Tambajong. *Ham Histologi Jilid I*. Edisi Kesembilan. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Dorland. 1998. "Dorlan's Illustrated Medical Dictionary". Disadur Tim Penerjemah EGC. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Faust C.E. dan Russell, P.F. 1961. *Clinical Parasitology*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Ganong, William F. 2001. "Human Physiology : From Cells to System". Disadur Brahm U, Pendit. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi Kedua. Jakarta: EGC
- Garcia, Lynne S. dan Bruckner, David A. 1996. "Diagnostic Medical Parasitology". Disadur Robby Makimian. *Diagnostik Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.

- Guyton, Arthur C. dan Hall, J.E. 1997. "Medical Textbook of Physiology". Disadur Irawati Setiawan, LMA Ken Ariata T. dan Alex Santoso. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Kesembilan. Jakarta: EGC.
- Henriquez, K.I. dan Gracia, K.D. 2007. *Atlas Virtual de Parasitologia*. <http://www.telmeds.org/AVIM/Apara/amebas/Entamoeba/images>. [24 Januari 2007]
- Jawetz, E., Melnick, J.L. dan Alberg, E.A. 1991. "Medical Microbiology". Disadur Edi Nugroho dan R.F. Maulany. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Jakarta: EGC.
- Jinfu, Wangrong, Guangying, Wenlie, Liqun, dan Hang. 2001. *Studies On Periodontal Disease Caused by Entamoeba gingivalis and It's Pathogenetic Mechanism*. <http://www.cmj.org/netprints/01/12/011202.htm>. [23 Oktober 2005 ].
- Junquiera, L. C. , Carneiro, J. dan Kelley, R.O. 1997. "Basic Histology ". Disadur Jan Tambajong. *Histologi Dasar*. Edisi Kedelapan. Jakarta: EGC.
- Lawler, William, Ahmed, Ali, dan William, J.H. 1992. "Essential Pathology for Dental Student". Disadur Agus Djaya. *Patologi untuk Kedokteran Gigi*. Jakarta : EGC.
- Leeson, C. R, Leeson, T.S, dan Paparo, A.A. 1993. "Coloured Atlas of Histology". Disadur Jan Tambajong. *Atlas Berwarna Histologi*. Jakarta : EGC.
- Leeson, C. R., Leeson, T. S.M dan Paparo, A.A. 1996. "Textbook of Histology". Disadur Staf Ahli Histologi FKUI. *Buku Ajar Histologi*. Edisi Kelima. Jakarta: EGC.
- Levine, Norman D. 1995. "Veterinary Protozoology". Disadur Soeprapto S dan Mukayat D.B. *Protozoologi Veteriner*. Yogyakarta: Gajah Mada Universiti Press.
- Lyons, Trevor. 2005. *About Entamoeba gingivalis*. <http://www.magma.ca/~amoeba/about%20Entamoeba%20Gingivalis.htm>. [18 Oktober 2005].
- Manson, J. D dan Eley, B. M. 1993. "Outline of Periodontics". Disadur Anastasia S. *Buku Ajar Periodonti*. Jakarta: Hipokrates.
- Mardijana, Alif. 1996. *Parasitologi Kedokteran Cestoda Protozoa*. Jember: PSKG Universitas Jember.

- Mardiyana, H. 2005 *Pengaruh Stresor Rasa Sakit terhadap Jumlah Leukosit Darah Tepi Tikus yang Dipapar Staphylococcus aureus*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ.
- Pratiknya, A. W. 2001. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi I. Cetakan 4. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Price, Sylvia A. dan Wilson, L.M.C. 1994. "Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes". Disadur Adji Dharma dkk. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit*. Edisi Keempat. Jakarta : EGC
- Robbins, S. L. dan Kumar, V. 1995. "Basic Pathology Part I". Disadur Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair. *Buku Ajar Patologi I*. Jakarta: EGC.
- Roberts, L.S. dan Schmidt, G.D. 2000. *Foundations of Parasitology*. Edisi Ketujuh. Singapura : MC Graw Hill
- Sodeman. 1995. "Pathophysiology". Disadur Andry Hartono dkk. *Patofisiologi*. Edisi Ketujuh jilid II. Jakarta: EGC.
- Spector, W.G dan Spector, T.D.1993. "an Introduction to General Pathology". Disadur Soetjipto, Harsoyo, Hana dan Astuti. *Pengantar Patologi Umum*. Edisi Ketiga. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Steel, Robert G. D. dan Torrie, H.1995. "Principles and Procedures of Statistics". Disadur Bambang Sumantri. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi Kedua. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Takada, Tetsuo, 2004. Effect of Restraint Stress on The Progression of Experimental Periodontitis in Rats. *Journal of Periodontology*, 75 ( 2 ) : 306-315.
- Turgeon, Mary L. 1996. "Immunology and Serology in Laboratory Medicine". Disadur . *Imunologi dan Serologi di Laboratorium Kesehatan*. Edisi Kedua. New York: Mosby Year Book.
- Underwood, J. C. E. 1999. "General and Systematic Pathology". Disadur Sayadi. *Patologi Umum dan Sistematis*. Edisi Kedua. Jakarta: EGC.
- Wilson, Thomas G, Newman, dan Kornman. 1992. *Advances in Periodontics*. Illinois: Quintessence Publishing Co, Inc, Ssi Worth.