



**DETEKSI MIGRASI *POLYMORPHONUCLEAR NEUTROPHIL* (PMN)
AKIBAT DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD)
PADA CAIRAN SULKUS GINGIVA
DAN *WHOLE SALIVA***

SKRIPSI

Oleh

RIANE ARIYANTI

NIM 071610101065

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**DETEKSI MIGRASI *POLYMORPHONUCLEAR NEUTROPHIL* (PMN)
AKIBAT DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD)
PADA CAIRAN SULKUS GINGIVA
DAN *WHOLE SALIVA***

SKRIPSI

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

Oleh

RIANE ARIYANTI

NIM 071610101065

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Apong Sunayah tersayang dan Ayahanda Heri Heriyanto, yang telah memberikan segala hal terbaik dalam hidup ini;
2. adik – adik saya Ririn riyanti dan Tiara asyfah ;
3. guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai dengan Perguruan Tinggi yang terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh ketulusan dan kesabaran;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

dan Dia menghilangkan kemarahan hati mereka (orang mukmin). dan Allah menerima tobat orang yang Dia kehendaki. Allah Maha Mengetahui, Maha bijaksana.
(*Terjemahan Surat At-Taubah Ayat 15*)^{*)}

Keindahan yang sesungguhnya adalah keindahan akhlaq, kecantikan yang sesungguhnya adalah kecantikan etika dan kebaikan yang sesungguhnya adalah kebaikan akal. ^{**})

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Semarang: PT Sygma Examedia Arkanleema.

^{***)} Aidh. 2004. *Jadilah Wanita Paling Bahagia*. Bandung: Irsyad Baitus Salam.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda-tangan di bawah ini:

nama : Riane Ariyanti

NIM : 071610101065

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Deteksi Migrasi *Polymorphonuclear Neutrophil (PMN)* akibat Demam Berdarah Dengue (DBD) pada Cairan Sulkus Gingiva dan *Whole Saliva* ” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas kesalahan 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 Januari 2012
Yang Menyatakan,

Riane Ariyanti
NIM 071610101065

SKRIPSI

**DETEKSI MIGRASI *POLYMORPHONUCLEAR NEUTROPHIL* (PMN)
AKIBAT DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD)
PADA CAIRAN SULKUS GINGIVA
DAN *WHOLE SALIVA***

Oleh

**RIANE ARIYANTI
NIM 071610101065**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. H. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Deteksi Migrasi *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN) Akibat Demam Berdarah Dengue (DBD) Pada Cairan Sulkus Gingiva dan *Whole Saliva*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 26 Januari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua,

drg. H. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D
NIP 195606121983031002

Anggota I,

Anggota II,

Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes.
NIP196903031997022001

drg. Niken Probosari, M.Kes.
NIP 196702201999032001

Mengesahkan

Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes.
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Deteksi Migrasi *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN) Akibat Demam Berdarah Dengue (DBD) Pada Cairan Sulkus Gingiva dan *Whole Saliva*; Riane Ariyanti; 071610101065; 2012; 48 halaman; Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Demam berdarah dengue (DBD) telah menjadi masalah kesehatan bukan hanya di Indonesia tetapi juga di negara lain di Asia Tenggara (Dharma, dkk., 2006). Indonesia menduduki peringkat kedua, penyakit DBD setelah Thailand. Jawa Timur dinyatakan sebagai daerah endemis demam berdarah. Penyebaran kasus DBD di Jawa Timur terdapat di 38 kabupaten/kota, dan juga menyebar di beberapa kecamatan atau desa yang ada di wilayah perkotaan maupun di pedesaan. Jumlah kasus dan kematian DBD di Jawa Timur selama 4 tahun (tahun 2001 sampai 2004) menunjukkan angka yang fluktuatif, namun cenderung meningkat. Berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Jember, tahun 2004 terjadi 247 kasus, tahun 2005 terjadi 1077 kasus, dan tahun 2006 terjadi 1050 kasus. Hampir seluruh kecamatan di Kabupaten Jember terjangkit penyakit DBD di tahun 2005 dan 2006 (Wahjudi, dkk., 2007).

Infeksi dengue diakibatkan oleh virus dengue yang disebarkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopitius* (Chen, dkk., 2009). Vektor DBD yang utama adalah nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue yang merupakan anggota genus *Flavivirus* dari family *Flaviviridae*. Oleh karena ditularkan melalui gigitan artropoda maka virus dengue termasuk *arbovirus* (Dharma, dkk., 2006).

Diagnosa lebih awal sangat dibutuhkan agar penanganannya lebih cepat dan sesuai. Rongga mulut dan cairan yang ada didalamnya merupakan salah satu yang mencerminkan terjadinya rangkaian perubahan imunologik yang kompleks. Dalam

rongga mulut terdapat cairan rongga mulut yang terdiri dari cairan sulkus gingiva dan *whole saliva*, secara normal mengandung molekul-molekul kecil seperti halnya beberapa plasma protein memiliki suatu komposisi yang mirip dengan cairan limfa yang bisa dianggap sebagai transudat. Mediator-mediator radang atau *marker* kerusakan jaringan lain di dalam tubuh dengan cepat tersebar dalam cairan krevikular gingiva yang akan tersekresi dalam jumlah tertentu di rongga mulut akan membantu menegakkan diagnosa (Ratnaningsih, 2005). Neutrofil merupakan salah satu komponen dari sistem imun tubuh non spesifik yang terdepan dalam mencegah infeksi oleh berbagai mikroba seperti: bakteri, jamur, protozoa, virus dan sel-sel yang terinfeksi oleh virus (Miller, 2005). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya migrasi *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN) dari cairan sulkus gingiva dan *whole saliva* serta mengetahui bahwa cairan sulkus gingiva dan *whole saliva* dapat digunakan sebagai dasar untuk deteksi dini pasien DBD.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2011. Penelitian ini menggunakan sampel *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva yang didapatkan dari *volunter* penderita DBD dan *volunter* normal atau yang tidak terdiagnosa DBD. Untuk kelompok kontrol yakni *volunter* normal didapatkan 10 sampel untuk masing-masing *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva, sedangkan kelompok kedua yang terdiagnosa DBD didapatkan 10 sampel untuk masing-masing *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva. Kedua kelompok dilakukan perlakuan yang sama yakni pembuatan preparat hapusan serta diamati jumlah PMN di bawah mikroskop.

Analisa statistik untuk melihat adanya migrasi sel PMN pada *whole saliva* dan sulkus gingiva pada DBD adalah menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk uji normalitas data. Kemudian untuk mengetahui adanya perbedaan antar dua kelompok digunakan uji *Independent T-test* dengan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha=0,05$). Hasil uji *Independent T-test* untuk PMN *whole saliva* adalah $P= 0,001$ yang artinya H_0 ditolak, jadi terdapat perbedaan jumlah PMN *whole saliva* normal dengan jumlah

PMN *whole saliva* DBD, dimana jumlah PMN pada *whole saliva* DBD lebih banyak dibandingkan jumlah PMN pada sampel normal. Hasil uji *Independent T-test* untuk PMN sulkus gingiva adalah $P= 0,000$ yang artinya H_0 ditolak, jadi terdapat perbedaan jumlah PMN sulkus gingiva normal dengan jumlah PMN sulkus gingival DBD, dimana jumlah PMN pada sulkus gingiva DBD lebih banyak dibandingkan jumlah PMN pada sampel normal.

PMN yang ditemukan dalam penelitian ini mengalami peningkatan dalam *whole saliva* dan cairan sulkus gingivanya, ini karena kerusakan sel-sel endotel dalam rongga mulut yang akan memacu terjadinya proses inflamasi yang akan mengaktifkan neutrofil sebagai salah satu penandanya. Karena itulah salah satu manifestasi yang ditimbulkan dari keadaan inflamasi adalah meningkatnya persentase kadar neutrofil, sesuai dengan pendapat Jufrie *et al.* (2000). Sulkus gingiva dan *whole saliva* berisi cairan yang jumlahnya meningkat bila terdapat peradangan, dimana pada cairan sulkus gingiva yang meradang jumlah neutrofil, makrofag, limfosit, monosit, ion elektrolit, protein plasma, dan endotoksin bakteri bertambah banyak (Vindani, 2008). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa, terdapat perubahan migrasi sel PMN pada cairan *whole saliva* dan sulkus gingiva pada sampel DBD dibandingkan dengan sampel normal yang tidak terdiagnosa DBD, yang artinya terdapat lebih banyak sel PMN pada cairan *whole saliva* dan sulkus gingiva pada penderita DBD.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Deteksi Migrasi *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN) Akibat Demam Berdarah Dengue (DBD) pada Cairan Sulkus Gingiva dan *Whole Saliva*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan atas bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan bagi penulis hingga terselesaikannya skripsi ini;
2. drg. H. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, dan dukungan moral yang tak terhingga dalam penulisan skripsi ini;
3. drg. Niken Probosari, M.Kes. selaku sekretaris penguji yang telah banyak memberikan masukan dalam menyempurnakan penulisan skripsi ini;
4. drg. Pujiana Endah L, M.Kes. selaku dosen wali yang telah menjadi seorang ibu dan memberikan motivasi selama menempuh studi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. RSUD dr Soebandi dan RS Bina Sehat Jember yang telah membantu pelaksanaan pengumpulan sampel serta pasien yang bersedia menjadi sukarelawan dalam penelitian saya;
6. Lembaga Penelitian Universitas Jember atas bantuan dana DIPA, sehingga penelitian ini dapat terlaksana;

7. Ibunda Apong Sunayah dan ayahanda Heri Heriyanto, kalian insan yang paling berjasa dan teristimewa dalam hidup ananda, terima kasih yang tak terhingga karena membesarkan ananda dengan kasih sayang, terima kasih banyak karena selalu mendidik dan mendoakan kejayaan dalam hidup ananda. Tidak ada yang bisa ananda lakukan untuk membalas semua yang ibu dan ayah berikan untukku selain Ananda doakan semoga ibu dan ayah selalu sehat, bahagia selalu di dunia dan akhirat.
8. Rofi Nurdiansyah, terima kasih atas semangat, kasih sayang, doa, dan telah menerima kekurangan serta kelebihan ananda selama ini;
9. Teman-teman seperjuangan skripsi Yuniwati Sarwo Endah, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya. Semoga tetap terjaga dengan baik;
10. Mbak Humayro, mas Anton, mas Abil terima kasih yang tak terhingga atas motivasi dan bantuannya selama penyusunan skripsi ini;
11. Sahabat-sahabatku Nahdya, Che-che, Yaya, Yasinta, Annisa KKN, Endiki, Anggie D puspito, Fitriana, serta teman-teman yang menyatu menjadi keluarga besar FKG 2007, terima kasih atas segalanya yang telah membuatku semakin memahami jika hidup itu adalah untuk berbagi bersama dan saling menopang;
12. Analis Laboratorium Mikrobiologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, mbak Wahyu, mbak Indri, pak Pin yang telah banyak membantu dalam penelitian;
13. Teman-teman peserta seminar proposal dan hasil, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terimakasih atas segala dukungan, baik moril maupun materi yang telah diberikan.

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

Jember, Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR SKEMA	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Demam Berdarah Dengue	6
2.1.1 Definisi Demam Berdarah	6
2.1.2 Manifestasi Simptomatik Infeksi Virus Dengue	7
2.1.3 Patogenesis	7
2.1.4 Manifestasi Klinis DBD	9
2.1.5 Diagnosis	10
2.1.6 Kriteria Laboratoris	12
2.1.7 Pemeriksaan Penunjang	12

2.2	Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	14
2.2.1	Taksonomi nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	15
2.3	Saliva	15
2.4	Cairan Sulkus Gingiva	17
2.5	Inflamasi	18
2.6	Neutrofil polimorfonuklear (PMN)	20
2.6.1	Definisi	20
2.6.2	Morfologi PMN	20
2.6.3	Sifat Pertahanan PMN	21
2.7	Hipotesis	24
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1	Jenis Penelitian	25
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.3	Variabel Penelitian	25
3.4	Definisi Operasional	26
3.5	Sampel Penelitian	26
3.6	Alat dan Bahan	27
3.7	Prosedur Penelitian	28
3.7.1	Proses Pengambilan Sampel Normal dan DBD	28
3.7.2	Prosedur Deteksi PMN pada cairan <i>whole saliva</i> dan sulkus gingiva	28
3.8	Alur Penelitian	31
3.9	Analisis Data	32
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Hasil Penelitian	33
4.2	Analisis Data	35
4.3	Pembahasan	38
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	44
	LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Derajat penyakit DBD	11
4.1 Jumlah PMN yang diamati pada masing-masing preparat	33
4.2 Uji Normalitas PMN <i>whole saliva</i> normal dan PMN <i>whole saliva</i> Demam berdarah serta PMN sulkus gingiva normal dengan PMN sulkus gingiva Demam berdarah.....	35
4.3 Uji homogenitas PMN <i>whole saliva</i> normal dengan PMN <i>whole saliva</i> DBD serta PMN sulkus gingiva normal dengan PMN sulkus gingiva DBD	35
4.4 Uji homogenitas untuk PMN <i>whole saliva</i> normal dan PMN <i>whole saliva</i> DBD yang datanya telah ditransformasi	36
4.5 Uji <i>independent T-test</i> untuk PMN <i>whole saliva</i> normal dengan PMN <i>whole saliva</i> Demam Berdarah serta antara PMN sulkus gingiva normal dengan PMN sulkus gingival.....	37

DAFTAR SKEMA

Halaman

2.1 Spektrum klinis infeksi virus Dengue	7
2.2 Hipotesis infeksi sekunder	8

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambaran histologis sel PMN	21
2.2 Gambaran migrasi neutrofil ke daerah radang.....	23
4.1 Diagram batang rata-rata jumlah PMN dalam kelompok sampel.....	33
4.2 Bentuk PMN dalam <i>whole saliva</i> dan sulkus gingiva	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Perhitungan Jumlah PMN	48
B. Hasil Rata-Rata Jumlah PMN di Tiap Kelompok Sampel	49
C. Hasil Uji Analisis Data	49
D. Alat dan Bahan Penelitian.....	51

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demam berdarah dengue (DBD) telah menjadi masalah kesehatan bukan hanya di Indonesia tetapi juga di negara lain di Asia Tenggara. Selama tiga sampai lima tahun terakhir jumlah kasus DBD telah meningkat sehingga Asia Tenggara menjadi wilayah hiperendemis (Dharma, dkk., 2006). Indonesia menduduki peringkat kedua penyakit DBD setelah Thailand. Jawa Timur dinyatakan sebagai daerah endemis demam berdarah. Penyebaran kasus DBD di Jawa Timur terdapat di 38 kabupaten/kota, dan juga menyebar di beberapa kecamatan atau desa yang ada di wilayah perkotaan maupun di pedesaan. Jumlah kasus dan kematian DBD di Jawa Timur selama 4 tahun (tahun 2001 sampai 2004) menunjukkan angka yang fluktuatif, namun cenderung meningkat. Berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Jember, tahun 2004 terjadi 247 kasus, tahun 2005 terjadi 1077 kasus, dan tahun 2006 terjadi 1050 kasus. Hampir seluruh kecamatan di Kabupaten Jember terjangkit penyakit DBD di tahun 2005 dan 2006 (Wahjudi, dkk., 2007).

Gejala penyakit DBD tidak khas dan sulit dideteksi sejak dini. Gejala awal biasanya mirip dengan gejala flu, sehingga sering diduga flu, seperti mendadak demam tinggi (panas tinggi) selama 2-7 hari, disertai sakit kepala, mual, muntah, sakit perut, batuk, kerongkongan sakit dan sesak nafas. Gejala lainnya flu, mata merah, sakit pada daerah sekitar mata, sakit pada tulang belakang, sakit di seluruh persendian dan otot, mimisan, gusi berdarah, bintik-bintik merah di kulit atau pendarahan spontan di kulit (bintik-bintik tersebut kalau ditekan tidak mau hilang, yaitu dengan mengikat tali elastik pada lengan penderita selama lima menit, bintik-bintik akan tampak lebih jelas). Gejala berikutnya sering mengeluh sakit ulu hati disertai gelisah (depresi) dan banyak keluar keringat tapi kulit terasa dingin. Pada tahap yang lebih parah, selain terjadi bercak-bercak pendarahan

berupa memar, pendarahan dari hidung, gusi, muntah darah, juga terjadi pengeluaran darah dari dubur (tinja lembek dan kehitaman). Dalam beberapa hari kondisi menjadi lebih parah dan sering menimbulkan kematian (Wahjudi, dkk., 2007).

Vektor demam berdarah dengue yang utama adalah nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue yang merupakan anggota genus *Flavivirus* dari family *Flaviviridae*. Oleh karena ditularkan melalui gigitan artropoda maka virus dengue termasuk *arbovirus* (Dharma, dkk., 2006).

Penderita DBD umumnya mengalami trombositopenia, meningkatnya permeabilitas kapiler, dan terdapat gangguan integritas sel endotel. Walaupun virus dengue tidak ditemukan pada sel endotel penderita DBD, tetapi telah terbukti bahwa sel-sel monosit yang telah terinfeksi virus dengue akan melepaskan faktor-faktor yang dapat mengaktifasi kultur sel endotel, yaitu *Interleukin-1 β* (IL-1 β), *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF). Faktor-faktor itu dapat menyebabkan efek terhadap endotel, yaitu menekan aktivitas antikoagulan, memacu prokoagulan, dan meningkatkan permeabilitas vaskular. Pada penderita DBD, jejas pada endotel terjadi akibat pembentukan kompleks imun dan aktivitas komplemen. Virus dengue dapat menginfeksi sel endotel secara *in vitro* dan menyebabkan pengeluaran sitokin dan kemokin, seperti IL-6, IL-8 dan *Regulated Activation And Secretion* (RANTES). Sel endotel yang terinfeksi virus dengue dapat menyebabkan aktivasi komplemen dan ekspresi *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1) yang bersama-sama dengan RANTES meningkatkan terikatnya sel polimorfonuklear dan mononukleus pada endotel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler dan dilepaskannya trombomodulin yang merupakan pertanda kerusakan sel endotel (Hartanto, 2005).

Menurut Jufrie *et al.* (2000) terinfeksi monosit oleh karena virus demam berdarah menyebabkan pengaktifan berbagai faktor (mediator inflamasi), yang mengakibatkan ruam, *shock*, dan *hemorrhages*. Di antara mediator yang terlibat adalah neutrofil (PMN), *plasma cascade* sistem (seperti sistem

komplemen), dan sitokin yang memainkan peran penting dalam patogenesis infeksi virus demam berdarah.

Diagnosa lebih awal sangat dibutuhkan agar penanganannya lebih cepat dan sesuai. Rongga mulut dan cairan yang ada didalamnya merupakan salah satu yang mencerminkan terjadinya rangkaian perubahan imunologik yang kompleks. Dalam rongga mulut terdapat cairan rongga mulut yang terdiri dari cairan sulkus gingiva dan *whole saliva*, secara normal mengandung molekul–molekul kecil seperti halnya beberapa plasma protein memiliki suatu komposisi yang mirip dengan cairan limfa yang bisa dianggap sebagai transudat. Mediator–mediator radang atau marker–marker kerusakan jaringan lain didalam tubuh dengan cepat tersebar dalam cairan krevikular gingiva yang akan tersekresi dalam jumlah tertentu di rongga mulut (Ratnaningsih, 2005).

Sulkus gingiva berisi cairan yang jumlahnya akan meningkat bila terdapat peradangan. Cairan gingiva ini mengandung sel-sel epitel yang lepas, leukosit *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN), limfosit, monosit, berbagai ion mineral (Na, K, dan Cl), berbagai protein imunoglobulin serta komponen komplemen, albumin, dan fibrinogen. Selain itu ditemukan juga asam laktat, urea, hidroksiapatit, asam sulfat, asam fosfat (Barid, dkk., 2007).

Keradangan meliputi kerusakan mikrovaskuler, meningkatnya permeabilitas vaskuler dan migrasi leukosit ke jaringan radang (Lawler, dkk., 2002). PMN serta makrofag bermigrasi ke cairan sulkus gingiva ketika sel-sel tersebut meninggalkan pembuluh darah kapiler dengan bermigrasi melewati dinding (diapedesis, emigrasi). PMN dan makrofag tersebut dapat terlihat dalam jumlah banyak pada jaringan ikat, *epithelial junction*, dan sulkus gingiva sehingga eksudat dari cairan sulkus gingiva dan protein serum ekstrasvaskular akan tampak, sedangkan migrasi PMN dan makrofag ke *whole saliva* berasal dari tonsila dan kelenjar limfa pada bagian belakang lidah (Junqueira, dkk., 1998). Saliva mengandung pula sel leukosit (sel makrofag, monosit, dan limfosit maupun sel PMN yang berasal dari lidah ataupun cairan gingiva (Barid, dkk., 2007).

Diagnosa dini virus dengue infeksi adalah penting untuk pengendalian wabah demam berdarah (Poloni, *et al.*, 2010). Kematian akibat DBD ini sebagian

besar oleh karena diagnosa yang belum pasti yang menyebabkan terlambatnya penanganan. Diagnosa lebih awal sangat dibutuhkan agar penanganannya lebih cepat dan sesuai (Ratnaningsih, 2005).

Maka penulis ingin melakukan penelitian tentang deteksi migrasi *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN) pada cairan sulkus ginggiva dan *whole saliva* pada penderita Demam Berdarah Dengue (DBD), dengan harapan dapat membantu diagnosa secara dini pada pasien DBD.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka timbul permasalahan yang dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah terjadi perubahan migrasi PMN dari cairan sulkus ginggiva dan *whole saliva* pada pasien DBD?
2. Apakah migrasi PMN dari cairan sulkus ginggiva dan *whole saliva* dapat digunakan sebagai dasar untuk deteksi dini pasien DBD?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui adanya perubahan migrasi PMN dari cairan sulkus ginggiva dan *whole saliva* pada pasien DBD.
2. Untuk mengetahui bahwa perubahan migrasi PMN dari cairan sulkus ginggiva dan *whole saliva* dapat digunakan sebagai dasar untuk deteksi dini pasien DBD.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dengan diketahuinya migrasi PMN pada cairan sulkus gingiva dan *whole saliva*, maka deteksi migrasi PMN dapat digunakan sebagai alternatif dasar diagnosis DBD secara dini.
2. Dapat memberikan kontribusi pemikiran terhadap penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Demam Berdarah Dengue

Demam berdarah dengue (DBD) telah menjadi masalah kesehatan bukan hanya di Indonesia tetapi juga di negara lain di Asia Tenggara. Selama tiga sampai lima tahun terakhir jumlah kasus DBD telah meningkat sehingga Asia Tenggara menjadi wilayah hiperendemis (Dharma, dkk., 2006). Penyakit ini juga banyak ditemukan di daerah tropis selain Asia Tenggara, juga ditemukan India, Brazil, Amerika termasuk di seluruh pelosok Indonesia, kecuali di tempat-tempat ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan air laut (Hartanto, 2005).

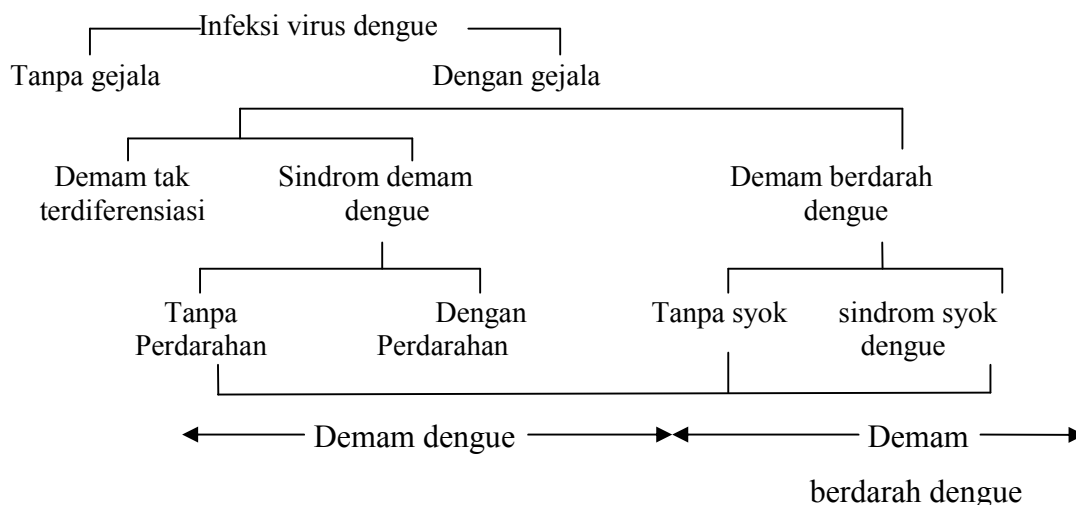
2.1.1 Definisi Demam Berdarah

DBD adalah penyakit demam akut yang disebabkan oleh virus dengue serta memenuhi kriteria WHO untuk DBD. DBD adalah salah satu manifestasi simptomatik dari infeksi virus dengue, virus ini merupakan penyakit demam akut yang ditemukan di daerah tropis, dengan penyebaran geografis yang mirip dengan malaria (Hartanto, 2005). Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue yang merupakan anggota genus *Flavivirus* dari famili *Flaviviridae*, terdapat 4 serotipe virus dengue yang disebut Dengue Fever Virus (DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4). Demam Berdarah ditularkan melalui gigitan artropoda maka virus dengue termasuk *arbovirus*. Vektor DBD yang utama adalah nyamuk *Aedes aegypti*. DBD merupakan bentuk berat dari infeksi dengue yang ditandai dengan demam akut, trombositopenia, neutropenia dan perdarahan. Permeabilitas vaskular meningkat yang ditandai dengan kebocoran plasma ke jaringan interstitial mengakibatkan hemokonsentrasi, efusi pleura, hipoalbuminemia dan hiponatremia yang akan menyebabkan syok hipovolemik (Dharma, dkk., 2006).

2.1.2 Manifestasi simptomatik infeksi virus dengue adalah sebagai berikut:

- a. Demam tidak terdiferensiasi
- b. Demam dengue (dengan atau tanpa perdarahan): demam akut selama 2-7 hari, ditandai dengan 2 atau lebih manifestasi klinis (nyeri kepala, nyeri retroorbital, mialgia/atralgia, ruam kulit, manifestasi perdarahan (petekie atau uji bendung positif, leukopenia) dan pemeriksaan serologi dengue positif atau ditemukan pasien yang sudah dikonfirmasi menderita demam dengue/ DBD pada lokasi dan waktu yang sama.
- c. DBD (dengan atau tanpa renjatan) (Chen, dkk., 2009).

Spektrum klinis infeksi virus dengue terdapat pada gambar 2.1:



Skema 2. 1. Spektrum klinis infeksi virus dengue (Chen, dkk., 2009).

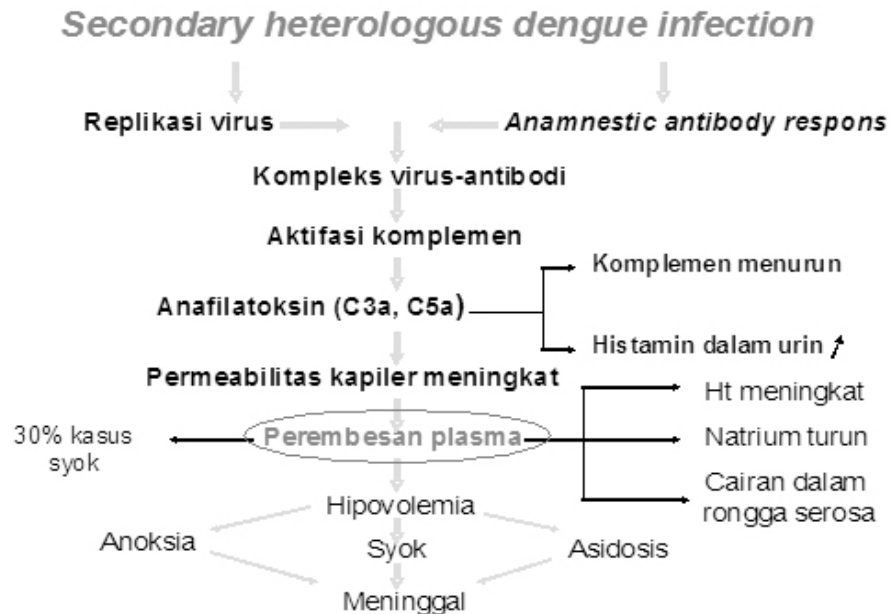
2.1.3 Patogenesis

Walaupun demam dengue (DD) dan demam berdarah dengue (DBD) disebabkan oleh virus yang sama, tapi mekanisme patofisiologisnya yang berbeda yang menyebabkan perbedaan klinis. Perbedaan yang utama adalah pada peristiwa renjatan yang khas pada DBD. Renjatan itu disebabkan karena kebocoran plasma yang diduga karena proses imunologi (Soegijanto, 2010).

Dua teori yang banyak dianut dalam menjelaskan patogenesis infeksi dengue adalah hipotesis infeksi sekunder (*secondary heterologous infection theory*) dan hipotesis *immune enhancement* (Chen, dkk., 2009). Terjadinya infeksi

virus dengue merupakan hasil interaksi multifaktorial yang dikatakan melibatkan faktor genetik, yaitu kerentanan yang diwariskan (Soegijanto, 2010).

a. Hipotesis infeksi sekunder



Skema 2.2 Hipotesis infeksi sekunder (Chen, dkk., 2009).

Menurut hipotesis infeksi sekunder yang diajukan oleh Suvatte (1977) (skema 2.2), sebagai akibat infeksi sekunder oleh tipe virus dengue yang berbeda, respon antibodi anamnestic pasien akan terpicu, menyebabkan proliferasi dan transformasi limfosit dan menghasilkan titer tinggi immunoglobulin G (IgG) antidengue. Karena bertempat di limfosit, proliferasi limfosit juga menyebabkan tingginya angka replikasi virus dengue, mengakibatkan terbentuknya kompleks virus-antibodi yang selanjutnya mengaktivasi sistem komplemen. Pelepasan komplemen menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah dan merembesnya cairan ke ekstravaskular. Hal ini terbukti dengan peningkatan kadar hematokrit, penurunan natrium dan terdapatnya cairan dalam rongga serosa (Soegijanto, 2010).

b. Hipotesis *immune enhancement*

Menyatakan secara tidak langsung bahwa mereka yang terkena infeksi kedua oleh virus heterolog mempunyai risiko berat yang lebih besar untuk menderita DBD berat. Antibodi heterolog yang telah ada akan mengenali virus lain kemudian membentuk kompleks antigen-antibodi yang berikatan dengan faktor reseptor dari membran leukosit terutama makrofag. Sebagai tanggapan dari proses ini, akan terjadi sekresi mediator vasoaktif yang kemudian menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, sehingga mengakibatkan keadaan hipovolemia dan syok (Chen, dkk., 2009).

2.1.4 Manifestasi klinis demam dengue

Manifestasi klinis demam dengue timbul akibat reaksi tubuh terhadap masuknya virus. Virus akan berkembang di dalam peredaran darah dan akan ditangkap oleh makrofag. Segera terjadi viremia selama 2 hari sebelum timbul gejala dan berakhir setelah lima hari gejala panas, makrofag akan segera bereaksi dengan menangkap virus dan memprosesnya. Makrofag sendiri merupakan *Antigen Presenting Cell* (APC). Antigen yang menempel di makrofag ini akan mengaktifasi sel *T-Helper* dan menarik makrofag lain untuk memfagosit lebih banyak virus. *T-Helper* akan mengaktifasi sel T-sitotoksik yang akan melisis makrofag yang sudah memfagosit virus. Juga mengaktifkan sel B yang akan melepas antibodi. Ada 2 jenis antibodi yang telah dikenali yaitu:

1. antibodi netralisasi
2. antibodi hemaglutinasi
3. antibodi fiksasi komplemen.

Proses di atas menyebabkan terlepasnya mediator-mediator yang merangsang terjadinya gejala sistemik seperti demam, nyeri sendi, otot, malaise dan gejala lainnya. Dapat terjadi manifestasi perdarahan karena terjadi agregasi trombosit yang menyebabkan trombositopenia, tetapi trombositopenia ini bersifat ringan (Soegijanto, 2010).

Monosit dan makrofag lebih mudah terinfeksi dan teraktivasi dengan adanya infeksi virus yang kedua dengan mengeluarkan *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF), dan *Platelet-Activating Factor* (PAF). Mediator-mediator tersebut akan mempengaruhi endotel yang menyebabkan kebocoran plasma dan perdarahan (Soegijanto, 2010).

2.1.5 Diagnosis

Terdapat 4 derajat spektrum klinis DBD, menurut kriteria *World Health Organization* (1997) yaitu:

1. Derajat 1: Demam disertai gejala tidak khas dan satu-satunya manifestasi perdarahan adalah uji torniquet.
2. Derajat 2: Seperti derajat 1, disertai perdarahan spontan di kulit dan peredaran lain.
3. Derajat 3: Didapatkan kegagalan sirkulasi, yaitu nadi cepat dan lemah, tekanan nadi menurun (20 mmHg atau kurang) atau hipotensi, sianosis di sekitar mulut kulit dingin dan lembab, tampak gelisah.
4. Derajat 4: Syok berat

Diagnosa menurut WHO tahun 1999, terdiri dari klinis dan laboratoris, disamping menentukan derajat beratnya penyakit (Ratnaningsih, 2005).

Tabel 2.1 Derajat penyakit DBD

Kriteria Klinis:	
Klinis	Derajat Penyakit
• Panas tinggi mendadak	I. Demam dengan Uji bendung (+)
• Perdarahan (uji bendung (+), ptekieae, epistaksis).	II. Derajat I dengan perdarahan spontan
• Hepatomegali	III. Nadi cepat dan kecil, tekanan nadi <20 mmHg hipotensi, akral (kaki) dingin
• Syok : Nadi kecil dan cepat tekanan nadi <20 mmHg, hipotensi, disertai gelisah dan akral (kaki) dingin.	IV. Syok berat, nadi tak teraba, tekanan darah tak terukur
Kriteria Laboratorius :	
a) Trombositopenia ($\leq 100.000/\text{mm}^3$)	
b) Hemokonsentrasi; dapat dilihat dari kenaikan hematokrit 20% atau lebih menurut standar umur dan jenis kelamin ($Ht > 20\%$ dari normal atau turun 20% setelah mendapat terapi cairan).	

Sumber : Ratnaningsih (2005).

Diagnosa pasti DBD ditegakkan melalui pemeriksaan serologi dan isolasi virus. Diantara beberapa uji serologi, pemeriksaan *Hemagglutination Inhibition* (HI) adalah uji yang paling lazim digunakan sebagai *gold standart*. Namun uji *Enzym-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) saat ini merupakan metode pilihan, karena praktis, cepat, sederhana, dan cukup memerlukan satu spesimen darah, dan memiliki sensitivitas tinggi (Ratnaningsih, 2005).

2.1.6 Kriteria Laboratoris

- a. Trombositopenia ($\leq 100.000/\text{mm}^3$)
- b. Hemokonsentrasi, dapat dilihat dari kenaikan hematokrit 20% atau lebih menurut standar umur dan jenis kelamin ($\text{Ht} > 20\%$ dari normal atau turun 20% setelah mendapat terapi cairan).

Diagnosa pasti DBD ditegakkan melalui pemeriksaan serologi dan isolasi virus. Diantara beberapa uji serologi, pemeriksaan HI adalah uji yang paling lazim digunakan sebagai *gold standart*. Namun uji ELISA saat ini merupakan metode pilihan, karena praktis, cepat, sederhana, dan cukup memerlukan satu spesimen darah, dan memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi (Ratnaningsih, 2005).

2.1.7 Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan laboratorium meliputi kadar hemoglobin, kadar hematokrit, jumlah trombosit, dan hapusan darah tepi untuk melihat adanya limfositosis relatif disertai gambaran limfosit plasma biru (sejak hari ke 3). Trombositopenia umumnya dijumpai pada hari ke 3-8 sejak timbulnya demam. Hemokonsentrasi dapat mulai dijumpai mulai hari ke 3 demam. Pada DBD yang disertai manifestasi perdarahan atau kecurigaan terjadinya gangguan koagulasi, dapat dilakukan pemeriksaan hemostasis misalnya *Prothrombin Time* (PT), *Activated Partial Thromboplastin Time* (APTT), Fibrinogen, D-Dimer atau *Fibrin Degradation Product* (FDP). Pemeriksaan lain yang dapat dikerjakan adalah albumin, *Serum Glutamate Oxaloacetat Transaminase* (SGOT)/*Serum Glutamate Pyruvate Transaminase* (SGPT), ureum/kreatinin. Untuk membuktikan etiologi DBD, dapat dilakukan beberapa uji antara lain:

1. Uji diagnostik melalui pemeriksaan isolasi virus.

Di antara tiga jenis uji etiologi, yang dianggap sebagai standar baku adalah metode isolasi virus. Namun, metode ini membutuhkan tenaga laboratorium yang ahli, waktu yang lama (lebih dari 1–2 minggu), serta biaya yang relatif mahal. Oleh karena keterbatasan ini, seringkali yang

dipilih adalah metode diagnosis molekuler dengan deteksi materi genetik virus.

2. *Reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR).

Pemeriksaan RT-PCR memberikan hasil yang lebih sensitif dan lebih cepat bila dibandingkan dengan isolasi virus, tapi pemeriksaan ini juga relatif mahal serta mudah mengalami kontaminasi yang dapat menyebabkan timbulnya hasil positif semu.

3. Pemeriksaan serologi.

Dengan mendeteksi IgM dan IgG-anti dengue. Imunoserologi berupa IgM terdeteksi mulai hari ke 3-5, meningkat sampai minggu ke 3 dan menghilang setelah 60-90 hari. Pada infeksi primer, IgG mulai terdeteksi pada hari ke 14, sedangkan pada infeksi sekunder dapat terdeteksi mulai hari ke 2.

4. Pemeriksaan antigen *nonstructural protein 1* (NS1).

Antigen NS1 diekspresikan di permukaan sel yang terinfeksi virus Dengue. Masih terdapat perbedaan dalam berbagai literatur mengenai berapa lama antigen NS1 dapat terdeteksi dalam darah. Sebuah kepustakaan mencatat dengan metode ELISA, antigen NS1 dapat terdeteksi dalam kadar tinggi sejak hari pertama sampai hari ke 12 demam pada infeksi primer Dengue atau sampai hari ke 5 pada infeksi sekunder Dengue. Pemeriksaan antigen NS1 dengan metode ELISA juga dikatakan memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi (88,7% dan 100%). Oleh karena berbagai keunggulan tersebut, WHO menyebutkan pemeriksaan deteksi antigen NS1 sebagai uji dini terbaik untuk pelayanan primer. Pemeriksaan radiologis dapat dilakukan untuk melihat ada tidaknya efusi pleura, terutama pada hemitorak kanan dan pada keadaan perembesan plasma hebat, efusi dapat ditemukan pada kedua hemitorak. Asites dan efusi pleura dapat pula dideteksi dengan *Ultrasonografi* (USG) (Chen, dkk., 2009).

2.2 Nyamuk *Aedes aegypti*

Aedes aegypti merupakan jenis nyamuk yang dapat membawa virus *Dengue* penyebab penyakit demam berdarah. Selain *dengue*, *A. aegypti* juga merupakan pembawa virus demam kuning (*yellow fever*) dan *Chikungunya*. Penyebaran jenis ini sangat luas, meliputi hampir semua daerah tropis di seluruh dunia. Sebagai pembawa virus *dengue*, *A. aegypti* merupakan pembawa utama (*primary vector*) dan bersama *Aedes albopictus* menciptakan siklus persebaran *dengue* di desa dan kota. Mengingat keganasan penyakit demam berdarah, masyarakat harus mampu mengenali dan mengetahui cara-cara mengendalikan jenis ini untuk membantu mengurangi persebaran penyakit demam berdarah (Womack, 1993).

Nyamuk *Aedes aegypti* dewasa memiliki ukuran sedang dengan tubuh berwarna hitam kecoklatan. Tubuh dan tungkainya ditutupi sisik dengan garis-garis putih keperakan. Di bagian punggung (dorsal) tubuhnya tampak dua garis melengkung vertikal di bagian kiri dan kanan yang menjadi ciri dari spesies ini. Sisik-sisik pada tubuh nyamuk pada umumnya mudah rontok atau terlepas sehingga menyulitkan identifikasi pada nyamuk-nyamuk tua. Ukuran dan warna nyamuk jenis ini kerap berbeda antar populasi, tergantung dari kondisi lingkungan dan nutrisi yang diperoleh nyamuk selama perkembangan. Nyamuk jantan dan betina tidak memiliki perbedaan dalam hal ukuran nyamuk jantan yang umumnya lebih kecil dari betina dan terdapatnya rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan. Kedua ciri ini dapat diamati dengan mata telanjang (Womack, 1993).

2.2.1 Taksonomi nyamuk *Aedes aegypti* sebagai berikut:

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Diptera
Famili	: Culicidae
Genus	: <i>Aedes</i>
Upagegenus	: <i>Stegomyia</i>
Spesies	: <i>Aedes aegypti</i> Line
Nama binomial	: <i>Aedes aegypti</i> (Womack, 1993).

2.3 Saliva

Saliva adalah suatu cairan mulut yang kompleks, tidak berwarna, yang disekresikan dari kelenjar saliva mayor dan minor untuk mempertahankan homeostasis dalam rongga mulut. Pada orang dewasa yang sehat, diproduksi saliva lebih kurang 1,5 liter dalam waktu 24 jam. Sekresi saliva dikendalikan oleh sistem persarafan, terutama sekali oleh reseptor kolinergik. Rangsang utama untuk peningkatan sekresi saliva adalah melalui rangsang mekanik (Amerongan dalam Hasibuan, 2002).

Whole saliva merupakan barrier sistem imun mukosa yang berfungsi mempertahankan homeostasis dalam rongga mulut. Kelenjar saliva meliputi kelenjar saliva besar dan kelenjar-kelenjar kecil yang berada disekitar rongga mulut yang tidak mempunyai saluran keluar yang jelas serta jumlahnya banyak sekali. Barrier protektif mukosa mulut terlihat berlapis-lapis terdiri atas air liur pada permukaannya, lapisan keratin, lapisan granular, membran basal, dan komponen seluler serta humoral yang berasal dari pembuluh darah. Jaringan lunak di rongga mulut yang terdapat kelenjar saliva minor yang tersebar di bawah mukosa mulut berhubungan dengan nodus limfatik ekstraoral dan agregasi limfoid intraoral. Suatu jaringan halus kapiler limfatik yang terdapat pada permukaan mukosa lidah, dasar mulut, palatum, pipi, bibir yang berasal dari gusi. Kapiler-kapiler ini bersatu membentuk pembuluh limfatik besar dan bergabung dengan

pembuluh limfatik yang berasal dari bagian di dalam otot lidah dan struktur lainnya. Antigen mikrobial yang dapat menembus epitel masuk ke lamina propria, dan difagositosis oleh sel-sel Langerhans yang banyak ditemukan pada mukosa mulut. Kelenjar saliva ini ditemukan berbagai komponen selular dan humoral, seperti PMN, makrofag, limfosit dan sel plasma yang penting dalam respon imun terhadap bakteri (Rifai, 2011).

Saliva mempunyai beberapa fungsi penting di dalam rongga mulut, diantaranya sebagai pelumas, aksi pembersihan, pelarutan, pengunyahan dan penelanan makanan, proses bicara, sistem buffer dan yang paling penting adalah fungsi sebagai pelindung dalam melawan karies gigi. Kelenjar saliva dan saliva juga merupakan bagian dari sistem imun mukosa. Sel-sel plasma dalam kelenjar saliva menghasilkan antibodi, terutama sekali imunoglobulin A yang ditransportasikan ke dalam saliva. Selain itu, beberapa jenis enzim antimikrobial terkandung dalam saliva seperti lisozim, laktoferin dan peroksidase (Amerongan dalam Hasibuan, 2002).

Saliva terdiri atas tiga kelenjar saliva mayor yaitu parotis, sumandibularis, dan sublingualis sementara yang termasuk kelenjar saliva minor adalah kelenjar ludah kecil yang terdapat dalam mukosa pipi, bibir, palatum, dan glosopalatal. Saliva mengandung enzim maupun bahan-bahan non enzim (protein, kalsium, fosfor, sodium, dan garam-garam mineral lainnya) juga gas-gas yang terlarut seperti nitrogen, oksigen, karbon dioksida serta sel-sel (Barid, dkk., 2007).

Kelenjar saliva diperlukan untuk menghasilkan saliva yang berfungsi untuk membantu pengunyahan dan membasahi membran mukosa rongga mulut serta bibir. Kelenjar saliva meliputi kelenjar saliva besar dan kelenjar-kelenjar kecil yang berada disekitar rongga mulut yang tidak mempunyai saluran keluar yang jelas serta jumlahnya banyak sekali (Herniyati, dkk., 2008).

Kelenjar saliva dibagi menjadi 2, yaitu:

1. Kelenjar saliva minor (intrinsik)

Kelenjar ini terletak tersebar pada mukosa dan submukosa rongga mulut, merupakan kelenjar kecil-kecil yang mengeluarkan sekretnya secara terus

menerus, sekretnya mempunyai sifat mukous, serous, seromukous. Kelenjar ini terdiri kelenjar labialis, kelenjar bukalis, dan kelenjar palatal.

2. Kelenjar saliva mayor (ektrinsik)

Merupakan kelenjar ekstrinsik yang mengeluarkan sekretnya kedalam rongga mulut, yang terdiri dari 3 pasang kelenjar yang besar yaitu kelenjar parotis, kelenjar sublingualis, kelenjar submandibularis, sublingualis (Herniyati, dkk., 2008).

2.4 Cairan Sulkus Gingiva

Komponen darah humoral dan seluler dapat mencapai permukaan gigi dan epitel dalam rongga mulut melalui aliran, cairan menembus epitel perlekatan gingival. Struktur dan fungsi epitel perlekatan adalah dalam pengertian hubungan biologi antara komponen vaskuler dan struktur periodontal. Epitel perlekatan membentuk perlekatan organis pada gigi dan berdampingan dengan epitel sulkus yang berlanjut ketepi gingiva. Epitel perlekatan berbeda dengan epitel lainnya terdiri dari dua lamina besar, satu melekat pada jaringan ikat dan lainnya pada gigi. Epitel hanya mempunyai sedikit jalur yang bercabang dan mempunyai ruang interseluler yang lebih lebar (Barid, dkk., 2007).

Cairan sulkus gingiva (CSG) adalah suatu produk filtrasi fisiologis dari pembuluh darah yang termodifikasi. Cairan sulkus gingiva dapat berasal dari jaringan gingiva yang sehat. Cairan sulkus gingiva berasal dari serum darah yang terdapat dalam sulkus gingiva baik gingiva dalam keadaan sehat maupun meradang. Pada CSG dari gingiva yang meradang jumlah PMN, makrofag, limfosit, monosit, ion elektrolit, protein plasma dan endotoksin bakteri bertambah banyak, sedangkan jumlah urea menurun. Komponen seluler dan humoral dari darah dapat melewati epitel perlekatan yang terdapat pada celah gusi dalam bentuk CSG. Pada keadaan normal, CSG yang banyak mengandung leukosit ini akan melewati epitel perlekatan menuju ke permukaan gigi. Aliran cairan ini akan meningkat bila terjadi gingivitis atau periodontitis. Cairan sulkus gingiva bersifat alkali sehingga dapat mencegah terjadinya karies pada permukaan enamel dan

sementum yang halus. Keadaan ini menunjang netralisasi asam yang dapat ditemukan dalam proses karies di area tepi gingiva. Cairan sulkus gingiva juga dapat digunakan sebagai indikator untuk menilai keadaan jaringan periodontal secara objektif sebab aliran CSG sudah lebih banyak sebelum terlihatnya perubahan klinis radang gingiva bila dibandingkan dengan keadaan normal (Vindani, 2008).

Fungsi cairan krevikuler gingiva atau CSG menurut Manson & Eley (1993) adalah sebagai berikut:

1. Mencuci daerah leher gingiva, mengeluarkan sel-sel epitelial yang terlepas, leukosit, bakteri, dan kotoran lainnya.
2. Protein plasma dapat mempengaruhi perlekatan epitelial ke gigi.
3. Mengandung agen antimikrobia misalnya lisosim.
4. Membawa leukosit PMN dan makrofag yang dapat membunuh bakteri, juga menghantarkan IgG, IgA, IgM dan faktor-faktor lain dari sistem imun.
5. Jumlah cairan gingiva dapat diukur dan digunakan sebagai indeks dari inflamasi gingival.

2.5 Inflamasi

Inflamasi adalah respon biologis kompleks dari jaringan vaskuler atas adanya bahaya, seperti patogen, kerusakan sel, atau iritasi. Ini adalah suatu usaha perlindungan diri organisme untuk menghilangkan rangsangan penyebab luka dan inisiasi proses penyembuhan jaringan. Inflamasi yang tidak terkontrol juga dapat menyebabkan penyakit, seperti demam, *arteriosclerosis*, dan *rheumatoid arthritis* (Gard, 2001).

Fenomena inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskuler, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Selama proses inflamasi terjadi banyak mediator kimia yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin. Inflamasi merupakan respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi diawali oleh sejumlah antigen atau rangsang dan terjadi

dibagian tubuh manapun tetapi ciri dasarnya selalu sama apapun penyebab dan dimanapun tempatnya (Lawler, dkk., 2002).

Inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurung (*sekuester*) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu. Bantuk akutnya ditandai oleh tanda klasik yaitu nyeri (*dolor*), panas (*kalor*), kemerahan (*rubor*), bengkak (*tumor*), dan hilangnya fungsi (*functiolesia*). Secara histologis, menyangkut rangkaian kejadian yang rumit, mencakup dilatasi arteriol, kapiler, dan venula, disertai peningkatan permeabilitas dan aliran darah; eksudasi cairan; termasuk protein plasma; dan migrasi leukositik ke dalam fokus peradangan (Dorland, 1996).

Perubahan vaskular mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi) dan perubahan struktural yang memungkinkan protein plasma untuk meninggalkan sirkulasi (peningkatan permeabilitas vaskular) (Espino, 2010). Penderita demam berdarah dengue umumnya mengalami demam akut, trombositopenia, netropenia, perdarahan, peningkatan permeabilitas vascular, dan kerusakan endotel (Hartanto, 2005).

Leukosit yang didominasi oleh neutrofil, melekat pada endotel melalui molekul adesi, kemudian meninggalkan mikrovaskular dan bermigrasi ke tempat cedera di bawah pengaruh agen kemotaktik yang kemudian diikuti dengan fagositosis. Perubahan pada vaskular dan selular yang terjadi dapat disebabkan oleh efek langsung, namun sebagian besar karena adanya bermacam-macam zat yang disebut mediator kimia. Mediator reaksi inflamasi meliputi neuropeptid, peptid fibrinolitik, kinin, fragmen komplemen, amin vasoaktif, enzim lisosom, metabolit asam arakidonat dan sitokin. Hal ini diawali oleh respon neuro-vaskular yang menyebabkan hiperemi, kongesti vaskular, edema ligamen periodonsium dan ekstravasasi neutrofil. Ketika infeksi terlibat, neutrofil tidak hanya melawan mikroorganisme, tetapi juga melepaskan leukotrien dan prostaglandin (Roslida & Zuraini, 2003).

Menurut Espino (2010) apabila neutrofil darah meningkat dapat diindikasikan bahwa terjadi peradangan (inflamasi) dalam tubuh akibat masuknya

agen penyakit maupun benda asing. Umumnya neutrofil secara normal memerlukan waktu sekitar 10 jam di dalam sirkulasi darah sebelum masuk ke dalam jaringan yang mengalami infeksi.

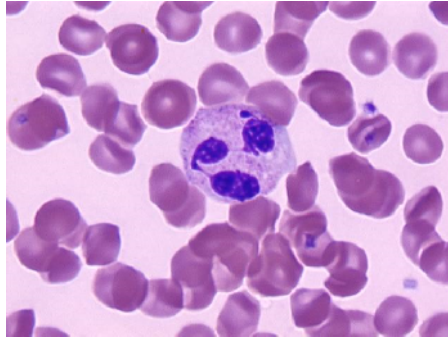
2.6 Neutrofil polimorfonuklear (PMN)

2.6.1 Definisi

Neutrofil adalah leukosit granular yang memiliki inti tiga hingga lima lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus (Dorland, 1998). Menurut Lee *et al.* (1998), sel ini dinamakan neutrofil karena warnanya yang netral terhadap pengecatan *Wright stain*. Neutrofil adalah leukosit utama yang ada dalam darah manusia, berjumlah 60-70 % (4000-8000 sel/mm³) dari seluruh leukosit yang beredar. Sel ini berkembang dalam sumsum tulang selama 14 hari, kemudian dikeluarkan dalam sirkulasi (Wilson, 1996).

2.6.2 Morfologi PMN

Neutrofil termasuk jenis leukosit *polimorfonuklear* yang dalam keadaan segar berdiameter 10-12 μm . Sel ini memiliki satu inti yang terdiri dari 3-5 lobus. Lobus berbentuk lonjong yang tak teratur, saling dihubungkan oleh benang-benang kromatin yang halus. Jumlah lobus bertambah sesuai dengan bertambahnya umur sel. Intinya sangat polimorf dan memperlihatkan berbagai bentuk, sedangkan anak intinya tidak terlihat. Neutrofil (Gambar 2.1). granula yang terdapat pada sel ini merupakan lisosom tipe khusus yang mengandung enzim hidrolisis (Leeson, dkk., 1996). Granula pada neutrofil ada 2 macam yaitu granula azurofilik yang mengandung enzim lisozim dan peroksidase serta serta granula spesifik yang lebih kecil. Sel ini mengandung fosfatase alkali serta zat-zat bakterisidal (protein kationik) yang dinamakan fagositin. PMN jarang mengandung retikulum endoplasma granuler, mengandung sedikit mitokondria, apparatus golgi rudimeter dan sedikit glikogen (Effendi, 2003).



Gambar 2.1 Sel PMN (Sumber : Guyton & Hall, 1996).

2.6.3 Sifat pertahanan PMN

Neutrofil disebut juga leukosit *Polymorphonuclear* (PMN) merupakan 50-60% dari komponen leukosit yang berada dalam darah tepi. Neutrofil merupakan salah satu komponen dari sistem imun tubuh non spesifik yang terdepan dalam mencegah infeksi oleh berbagai mikroba seperti: bakteri, jamur, protozoa, virus dan sel-sel yang terinfeksi oleh virus (Miller, 2005).

PMN mempunyai metabolisme yang sangat aktif dan mampu melakukan glikolisis baik secara aerob maupun anaerob. Kemampuan PMN untuk hidup dalam lingkungan anaerob sangat menguntungkan, karena mereka dapat membunuh bakteri dan membantu debris pada jaringan nekrotik (Effendi, 2003). Mekanisme pertahanan oleh PMN diawali dengan pergerakan neutrofil menuju jaringan melalui diapedesis. Sewaktu melalui pori-pori pembuluh darah, neutrofil dapat keluar dengan cara diapedesis. Ketika PMN melalui pori-pori yang kecil, sel ini akan berkonstriksi sesuai dengan ukuran pori (Guyton & Hall, 1996).

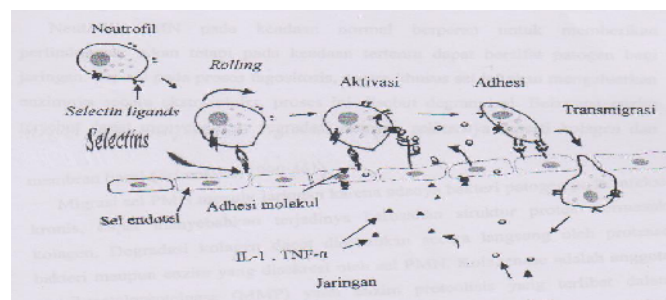
PMN terkumpul pada daerah peradangan oleh adanya *chemoattractants* seperti leukotrin B4 (LTB4) dan *chemokin* (sitokin) yang berupa *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), interleukin-8 (IL-8), interleukin-1 (IL-1), interferon- γ (IFN- γ) serta factor kemotaksis neutrofil dan *platelet activating factor* (Caranza, *et al.*, 2006). *Chemoattractants* adalah agen kemotaksis yang menyebabkan suatu organisme atau sel bermigrasi keagen tersebut (Dorland, 1998).

Leukotrin B₄ merupakan *chemoattractants* yang paling potensial bagi PMN dan disintesis dari asam arakidonat melalui interaksi dari 5-lipoksigenase dengan leukotrin A₄ Hidrolase *Chemoattractants* yang paling potensial bagi neutrofil dan disintesis dari asam arakidonat dari 5-lipoksigenase dengan leukotrin A₄ hidrolase (Christmas, *et al.*, 2006). Leukotrin ini dihasilkan oleh sel PMN atau makrofag yang berfungsi dalam pengaturan respon imun *host* terhadap adanya rangsangan antigen dengan mempengaruhi *chemokinesis*, agregasi neutrofil, merangsang aktifitas sitotoksik sel T, sel *Natural Killer* (NK) serta sel T (William, *et al.*, 1989).

Interleukin-8 juga merupakan *chemoattractants* PMN yang potensial dan masuk dalam subfamily *chemokin ciklooksigenase* (CXC). *Chemokin* diekspresikan oleh berbagai tipe sel seperti PMN dan sel T (Lin, *et al.*, 2006). Interleukin ini berfungsi sebagai pemicu aktivitas sel T, sel B, *pyrogen* endogen, serta factor resorpsi (Hamada, *et al.*, 1988). *Chemoattractants* PMN lainnya yaitu IL-1 merupakan polipeptida yang diproduksi terutama oleh makrofag yang teraktivasi, sel limfosit dan sel lainnya seperti sel mast, fibroblast dan keratinosit serta sel endotel. *Chemokine* ini memiliki efek yang sama seperti TNF, TNF adalah sitokin proinflamasi yang terdiri dari dua macam yaitu TNF- α yang dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi dan TNF- β yang dihasilkan oleh sel T. Efek proinflamasi TNF- α dan IL-1 yaitu merangsang sel endothelial untuk mengekspresikan selektin yang memfasilitasi pengumpulan leukosit, mengaktifkan makrofag memproduksi IL-1 dan menginduksi produksi prostaglandin E₂, (PGE₂) oleh makrofag dan fibroblast (Carranza, *et al.*, 2006).

Interferon- γ adalah sitokin yang berfungsi untuk merangsang sel T *helper-1* (Th-1) dan sel T *helper-2* (Th-2) untuk mengalami diferensiasi (Carranza, *et al.*, 2006). *Chemoattractants* tersebut menyebabkan neutrofil bergerak secara kemotaktis. Pmn bergerak secara kemotaktis dengan gerakan amuboid dalam kecepatan 40 $\mu\text{m}/\text{menit}$ (beberapa lipat ukuran sel itu sendiri setiap menit). Dengan cara kemotaksis neutrofil bergerak kearah jaringan yang meradang. Banyak bahan-bahan kimia jaringan yang dapat menyebabkan neutrofil bergerak menuju sumber bahan kimia tersebut, fenomena ini dikenal dengan kemotaksis.

Bahan–bahan kimia tersebut antara lain: (1) beberapa racun yang dikeluarkan oleh bakteri seperti *Lipo Poly Saccharide* (LPS) yang dihasilkan bakteri gram negative (Carranza, *et al.*, 2006); (2) produk degenerative dari jaringan itu sendiri; (3) beberapa produk reaksi kompleks komplemen yang diaktifkan dalam jaringan yang meradang (C5a); (4) beberapa produk peradangan yaitu IL–8, IL-1, TNF– α , LTB4, Interferon– γ , (IFN– γ), Faktor kemotaksis neutrofil dan *platelet activating factor* (Carranza, *et al.*, 2006; Guyton & Hall, 1996).



Gambar 2.2 Migrasi neutrofil ke daerah radang diperantarai oleh adhesi molekul (Potzinger, *et al.*, 2006).

2.7 Hipotesis

Terdapat perubahan migrasi *polymorphonuclear neutrophil* (PMN) akibat DBD pada cairan sulkus ginggiva dan *whole saliva*. Hipotesis nol (H_0) = hipotesis yang menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok atau tidak ada hubungan antara variabel atau tidak ada korelasi antar variabel. H_0 ditolak apabila terdapat beda antar dua variabel, sedangkan H_0 diterima apabila tidak ada beda antara dua variabel. Hipotesis alternatif (H_1) = hipotesis kebalikan dari hipotesis nol, yang akan disimpulkan bila hipotesis nol ditolak.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *cross sectional*. Penelitian *cross sectional* ialah penelitian non-eksperimental dalam rangka mempelajari dinamika korelasi antara faktor-faktor resiko dengan efek yang berupa penyakit atau status kesehatan tertentu, dengan model pendekatan *point time* (Watik, 2008). Teknik pengambilan sampel menggunakan *accidental sampling*, yakni cara pengambilan sampel berdasarkan kedekatan dalam menjangkau populasi artinya mengambil sampel siapa saja yang ada atau kebetulan ditemui (Notoatmodjo, 2005).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2011.

3.3 Variabel Penelitian

- 3.3.1 Variabel bebas : Demam berdarah dengue
- 3.3.2 Variabel terikat : Migrasi sel PMN pembuluh darah dari sulkus gingiva dan *whole saliva*
- 3.3.3 Variabel Kendali :
 1. Penderita demam berdarah dengue
 2. Kriteria diagnosis menurut WHO
 3. Teknik pemeriksaan

3.4 Definisi Operasional

- 3.4.1 Cairan sulkus gingiva adalah cairan yang berasal dari sulkus gingiva volunteer normal dan pasien DBD yang didapatkan dengan cara pasien berkumur menggunakan aquadest, lalu di masukkan *paperpoint* ke dalam sulkus gingiva selama 3 menit.
- 3.4.2 *Whole saliva* adalah cairan rongga mulut yang terdapat di rongga mulut pada volunteer normal dan pasien DBD yang didapatkan dengan cara meludahkan saliva tersebut kemudian ditampung dalam petridish.
- 3.4.3 *Polymorphonuclear neutrophil* (PMN) adalah leukosit bergranular berasal dari sulkus gingival dan *whole saliva* volunteer normal dan pasien DBD yang berbentuk bulat, sitoplasmanya banyak, mengandung granula yang halus, agak kemerahan, mempunyai inti (nukleus) berwarna ungu dan berbentuk batang atau segmen yang dihubungkan dengan benang kromatin.

3.5 Sampel Penelitian

- 3.5.1 Sampel normal : a. Tidak terdiagnosa DBD
- b. Tidak mempunyai penyakit diabetes mellitus, tidak memakai kawat ortodonti, tidak merokok, dan usia diatas 8 tahun.
 - c. *Volunter* berasal dari mahasiswa FKG Unej.
- 3.5.2 Sampel DBD : a. Terdiagnosa DBD sesuai dengan kriteria WHO.
- c. *Volunter* yang berasal dari rumah sakit RSUD dr Soebandi dan RS Bina Sehat Jember tidak mempunyai penyakit diabetes melitus, tidak memakai kawat ortodonti, tidak merokok, dan usia di atas 8 tahun.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

- a. Sentrifuse (Gammy 61040958, China)
- b. Petridish tidak bersekat
- c. Tabung reaksi (Pirex)
- d. Rak tabung reaksi
- e. Tabung Eppendorf
- f. Mikropipet (Nichipet Ex Nichiryo)
- g. Obyek glass (Citoplus 26x76 mm)
- h. *Deck Glass*
- i. Rak pengecatan (Lab- Aid)
- j. Mikroskop (Olympus, CX21, China)
- k. *Yellow tip*
- l. Masker (Diapro)
- m. *Handscoon* (Latex)

3.6.2 Bahan

- a. Cairan sulkus gingiva
- b. *Whole saliva*
- c. Larutan *Phosfat Buffer Saline* (PBS) diperoleh dari aquadest dan PBS tablet (Na_2HPO_4 dan NaCl)
- d. Aquadest steril
- e. Cat giemsa
- f. Larutan buffer
- g. Methanol

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Proses pengambilan sampel normal dan DBD

- a. Pengambilan sampel *whole saliva*
 1. *Volunter* diinstruksikan berkumur hingga bersih menggunakan aquadest sebelum pengumpulan sampel *whole saliva*.
 2. *Volunter* diinstruksikan meludahkan saliva ke dalam petridish.
 3. Pengumpulan cairan *whole saliva* sebanyak 2 ml.
 4. Disimpan pada suhu -70° hingga dilakukan perlakuan.
- b. Pengambilan cairan sulkus gingival
 1. Disiapkan tabung *eppendorf* steril.
 2. *Volunter* berkumur hingga bersih menggunakan aquadest steril.
 3. Plak supragingiva dibersihkan dan dikeringkan dengan hati-hati
 4. Diisolasi dengan *cotton roll* steril
 5. *Paper point* dimasukkan dalam margin gingival, 1 mm dalam sulkus dan dibiarkan selama 3 menit (Indriyanti, 2007).
 6. *Paper point* diambil dan di potong ujungnya ± 3 mm di atas bagian yang basah lalu dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf*.
 7. Disimpan pada suhu -70° hingga dilakukan perlakuan.

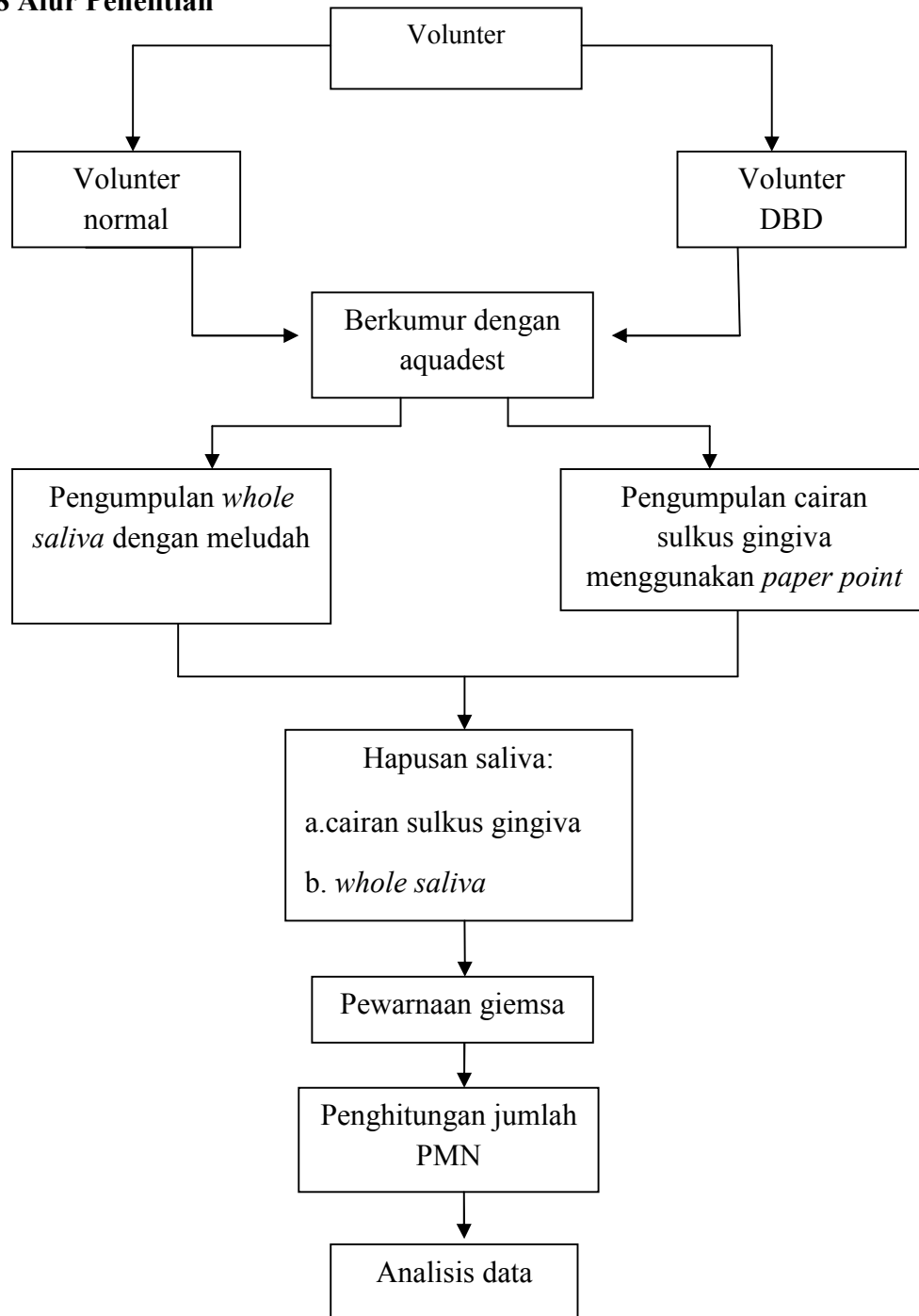
3.7.2 Prosedur Deteksi PMN pada cairan *whole saliva* dan sulkus gingiva

- a. Deteksi PMN pada *whole saliva*
 1. Sampel *whole saliva* diambil dari suhu -70° lalu dibiarkan mencair dalam suhu ruang.
 2. Di sentrifuse untuk mengendapkan partikel-partikel yang terlarut.
 3. Cairan *whole saliva* diambil menggunakan mikropipet dan dihapuskan di atas obyek *glass*.

4. Hapusan yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan *methanol* pada hapusan *whole saliva* sehingga tertutup seluruhnya. Waktu fiksasi yaitu \pm 2 menit.
 5. Pengecatan dilanjutkan dengan meneteskan larutan buffer yang sama banyaknya dengan cat giemsa tadi. Buffer dan cat giemsa segera dicampur dengan ditiupkan beberapa kali. Tunggu \pm 20 menit sehingga sel-sel tercat dengan baik.
 6. Hapusan dicuci dengan aquadest steril. Caranya aquadest dituangkan pada hapusan yang berada di atas rak sehingga semua cat terhanyut.
 7. Hapusan di letakkan pada sisinya dan ditunggu sampai kering. Jangan mengeringkan hapusan dengan kertas saring, kapas, dan sebagainya.
 8. Dilakukan perhitungan PMN di bawah mikroskop
- b. Deteksi PMN pada cairan sulkus gingiva
1. Sampel cairan sulkus gingival diambil dari suhu -70°
 2. *Papper point* yang berisi cairan sulkus gingiva, diberi larutan PBS pH 7,4 sebesar 500-1000 μ l, kemudian dilakukan sentrifuse selama 5 menit.
 3. Cairan sulkus gingiva diambil menggunakan mikropipet dan dihapuskan di atas obyek *glass*, tutup menggunakan cover glass.
 4. Hapusan yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan *methanol* pada hapusan sulkus gingiva sehingga tertutup seluruhnya. Waktu fiksasi yaitu \pm 2 menit.
 5. Pengecatan dilanjutkan dengan meneteskan larutan buffer yang sama banyaknya dengan cat giemsa tadi. Buffer dan *Wright's stain* segera dicampur dengan ditiupkan beberapa kali. Tunggu \pm 20 menit sehingga sel-sel tercat dengan baik.
 6. Hapusan dicuci dengan aquadest steril. Caranya aquadest dituangkan pada hapusan yang berada diatas rak sehingga semua cat terhanyut.

7. Hapusan diletakkan pada sisinya dan ditunggu sampai kering. Jangan mengeringkan hapusan dengan kertas saring, kapas, dan sebagainya.
8. Dilakukan perhitungan PMN di bawah mikroskop.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema alur peneliatian

3.9 Analisis Data

Hasil analisis ini akan dianalisa menggunakan *Kolmogorov-smirnov* sebagai uji normalisasi dari data, kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene test* sebagai uji homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka selanjutnya diuji dengan menggunakan *Independent T-test* untuk melihat adanya migrasi PMN pada penderita DBD dengan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha=0,05$).

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva yang didapatkan dari *volunter* penderita DBD dan *volunter* normal atau yang tidak terdiagnosa DBD. Untuk kelompok kontrol yakni *volunter* normal didapatkan 10 sampel untuk masing-masing *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva, sedangkan kelompok kedua yang terdiagnosa DBD didapatkan 10 sampel untuk masing-masing *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva. Kedua kelompok dilakukan perlakuan yang sama yakni pembuatan preparat hapusan serta diamati jumlah PMN di bawah mikroskop.

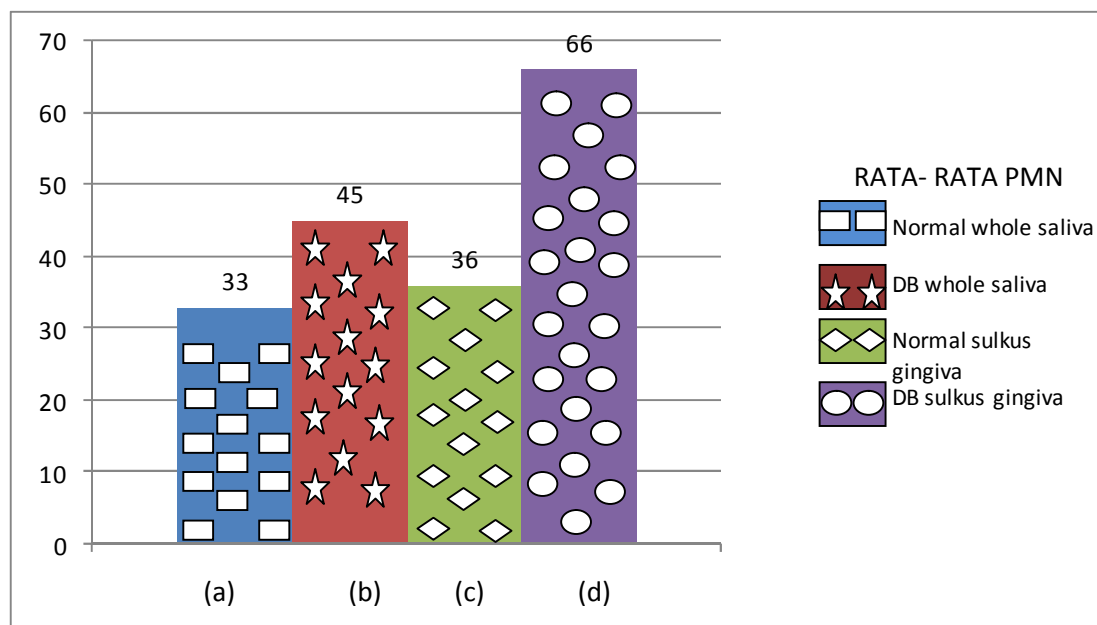
Hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 4.1. Hasil penelitian tentang migrasi PMN dalam *whole saliva* dan sulkus gingiva pada *volunter* penderita demam berdarah dan *volunter* normal yang tidak terdiagnosa demam berdarah.

Tabel 4.1 Jumlah PMN yang diamati pada masing-masing preparat

Sampel	Jumlah PMN			
	Whole Saliva		Sulkus Gingiva	
	Normal	DBD	Normal	DBD
1	30	44	36	72
2	32	42	41	46
3	28	61	38	66
4	41	41	30	76
5	36	40	34	58
6	30	55	36	64
7	32	35	41	70
8	28	58	38	72
9	41	42	30	68
10	36	36	34	70
Rata-rata	*33	*45	*36	*66

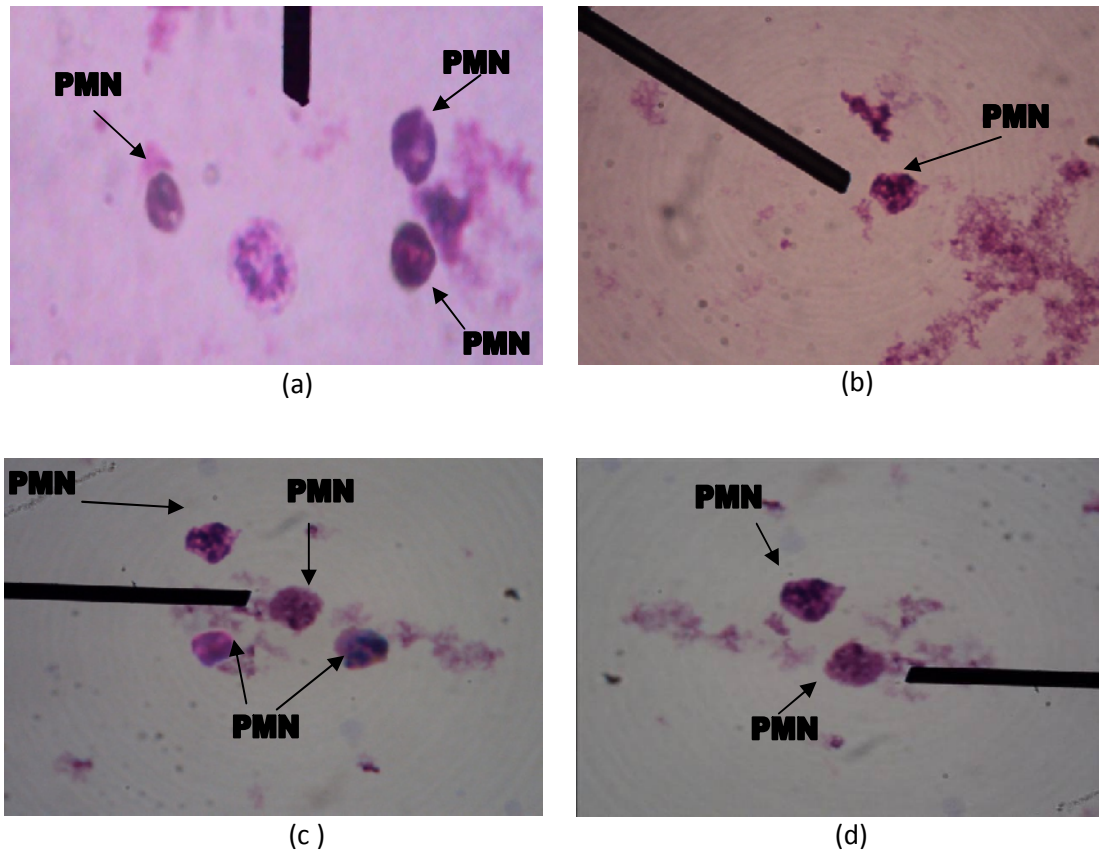
*Hasil rata – rata telah dibulatkan

Tabel 4.1 di atas menunjukkan perbedaan jumlah PMN pada setiap sampel *whole saliva* dan cairan sulkus gingiva yang didapatkan dari *volunter* penderita DBD dan *volunter* normal yang tidak terdiagnosa demam berdarah. Berdasarkan data yang ditampilkan di atas didapatkan rata-rata jumlah PMN pada *whole saliva* sampel normal yaitu 33; sedangkan jumlah rata-rata PMN *whole saliva* DBD lebih besar yaitu 45. Rata-rata jumlah PMN pada sulkus gingiva sampel normal yaitu 36. Jumlah rata-rata PMN sulkus gingiva sampel demam berdarah lebih besar yaitu 66.



Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata jumlah PMN dalam kelompok sampel

Keterangan: (a) PMN *whole saliva* normal; (b) PMN *whole saliva* Demam berdarah; (c) PMN sulkus gingiva normal; (d) PMN sulkus gingival DB



Gambar 4.2 Bentuk PMN dalam *whole saliva* dan sulkus gingiva dilihat dengan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali

Keterangan : (a) Sel PMN pada *whole saliva* sampel DBD; (b) Sel PMN pada *whole saliva* sampel normal; (c) Sel PMN pada sulkus gingiva sampel DBD; (d) Sel PMN pada sulkus gingiva sampel normal. Tampak pada ujung jarum petunjuk (PMN).

4.2 Analisis Data

4.2.1 Uji Normalitas (*One Sampel Kolmogorov – Smirnov Test*)

Data PMN dari tiap kelompok terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan analisis *one-sample kolmogorov smirnov*. Kriteria pengambilan keputusan uji *one-sample kolmogorov smirnov* sebagai berikut:

1. Jika nilai signifikansi (p) $< 0,05$ maka data berdistribusi tidak normal.
2. Jika nilai signifikansi (p) $> 0,05$ maka data berdistribusi normal.

Tabel 4.2 Uji Normalitas PMN *whole saliva* normal dan PMN *whole saliva* Demam berdarah serta PMN sulkus gingiva normal dengan PMN sulkus gingiva Demam berdarah.

Sampel	Tingkat signifikansi
PMN <i>whole saliva</i>	0,621
PMN sulkus gingival	0,274

Berdasarkan tabel di atas didapatkan nilai signifikansi $p = 0,621$ untuk PMN *whole saliva* dan $p = 0,274$ untuk PMN sulkus gingiva, yang artinya kedua data terdistribusi normal dan memenuhi persyaratan uji statistik parametrik.

4.2.2 Uji Homogenitas (*Levene test*)

Uji homogenitas merupakan uji untuk mengetahui apakah data dari setiap varian sama atau homogen. Kriteria pengambilan keputusan pada uji ini sebagai berikut:

1. Jika nilai signifikansi (p) $< 0,05$ maka data tidak homogen.
2. Jika nilai signifikansi (p) $> 0,05$ maka data homogen.

Tabel 4.3 Uji homogenitas untuk PMN *whole saliva* normal dengan PMN *whole saliva* DBD serta PMN sulkus gingiva normal dengan PMN sulkus gingiva DBD.

Sampel	Tingkat Signifikansi
PMN <i>whole saliva</i>	0,047
PMN sulkus gingival	0,127

Hasil uji homogenitas untuk PMN *whole saliva* di atas didapatkan nilai signifikansi $p = 0,047$, maka data bersifat tidak homogen, maka salah satu jalan keluar untuk mengatasinya adalah melalui transformasi data (Gaspersz,1991). Melalui transformasi data diharapkan kestabilan ragam dapat terpenuhi sehingga

dapat mendekati kesahihan sehingga persyaratan uji statistik parametrik terpenuhi dan dapat dilanjutkan dengan uji statistik *independent t- test*.

Hasil uji homogenitas untuk PMN sulkus gingiva di atas didapatkan nilai signifikansi $p = 0,127$, maka data bersifat homogen sehingga persyaratan uji statistik parametrik terpenuhi dan dapat dilanjutkan dengan uji statistik *independent t- test*.

Tabel 4. 4 Uji homogenitas untuk PMN *whole saliva* normal dan PMN *whole saliva* DBD yang datanya telah ditransformasi.

Sampel	Tingkat Signifikansi
PMN <i>whole saliva</i>	0,137

Hasil uji homogenitas untuk PMN *whole saliva* normal dan PMN *whole saliva* DBD setelah data ditransformasi adalah didapatkan nilai signifikansi $p = 0,137$, maka data bersifat homogen sehingga persyaratan uji statistik parametrik terpenuhi dan dapat dilanjutkan dengan uji statistik *independent t- test*.

4.2.3 Uji *Independent T-test*

Independent T-test adalah uji perbedaan rata – rata (mean) antara dua populasi, dengan rata – rata dua sampelnya. Berdasarkan nilai probabilitasnya adalah:

- ✓ Jika probabilitasnya $> 0,05$ Ho diterima.
- ✓ Jika probabilitasnya $< 0,05$ Ho ditolak

Tabel 4. 5 Uji *independent T-test* untuk PMN *whole saliva* normal dengan PMN *whole saliva* Demam Berdarah serta antara PMN sulkus gingiva normal dengan PMN sulkus gingiva.

Sampel	Tingkat Signifikansi
PMN <i>whole saliva</i>	0,001
PMN sulkus gingival	0,000

Hasil uji *Independent T-test* untuk PMN *whole saliva* di atas adalah $P = 0,001$ yang artinya H_0 ditolak, jadi terdapat perbedaan jumlah PMN *whole saliva* normal dengan jumlah PMN *whole saliva* Demam berdarah, dimana jumlah PMN pada *whole saliva* Demam berdarah lebih banyak dibandingkan jumlah PMN pada sampel normal.

Hasil uji *Independent T-test* untuk PMN sulkus gingiva di atas adalah $P=0,000$ yang artinya H_0 ditolak, jadi terdapat perbedaan jumlah PMN sulkus gingiva normal dengan jumlah PMN sulkus gingiva Demam berdarah, dimana jumlah PMN pada sulkus gingiva Demam berdarah lebih banyak dibandingkan jumlah PMN pada sampel normal.

4.3 Pembahasan

Tubuh kita sepanjang waktu terpapar dengan bakteri, virus, jamur, dan parasit, semuanya terjadi secara normal dan dalam berbagai tingkatan pada kulit, mulut, jalan napas, saluran cerna, membran yang melapisi mata, dan bahkan saluran kemih. Pada penelitian ini sampel volunter normal dalam rongga mulut terdapat neutrofil karena pada umumnya dalam rongga mulut terdapat debris-debris dan bakteri, neutrofil dengan proses kemotaksis berfungsi sebagai fagosit dan bakterisid yang mengontrol kontaminasi lokal dan mencegah infeksi. Neutrofil melepaskan protease yaitu elastase dan kolagenase yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel, merubah *extracellular matrix* dan membersihkan luka dari sel yang rusak (Guyton & Hall, 1996:545). Apabila suatu jaringan mengalami peradangan neutrofil PMN terkumpul

pada daerah peradangan oleh adanya (1) beberapa toksin bakteri dan virus; (2) produk degeneratif dari jaringan yang meradang itu sendiri; (3) beberapa produk reaksi kompleks komplemen; (4) beberapa produk reaksi yang disebabkan oleh pembekuan plasma di area yang meradang, dan juga zat-zat lain. *Chemoattractants* adalah agen kemotaksis yang menyebabkan suatu organisme atau sel bermigrasi keagen tersebut (Dorland, 1998).

Berdasarkan hasil penelitian di atas terdapat perbedaan jumlah migrasi sel-sel PMN antara penderita DBD dengan sampel normal atau tidak terdiagnosa demam berdarah pada *whole saliva* dan sulkus gingiva masing-masing pasien. Hasil semua rata-rata penelitian ini menunjukkan bahwa sel PMN pada sampel pasien DBD mengalami peningkatan migrasi khususnya pada sulkus gingiva demam berdarah, ini dikarenakan pada pasien demam berdarah mengalami disfungsi endotel dan peningkatan permeabilitas vaskular yang ditandai dengan kebocoran vascular akibat sitokin dan mediator kimia yang dilepaskan selama respon imun penderita terhadap infeksi virus dengue, penelitian ini sesuai dengan pendapat Dharma, dkk. (2006) yaitu pada percobaan *in vitro* dengan kultur sel endotel, ternyata sel endotel akan mengalami aktivasi jika terpapar dengan monosit yang terinfeksi virus dengue. Diduga setelah virus dengue berikatan dengan antibodi maka kompleks ini akan melekat pada monosit karena monosit mempunyai reseptor. Oleh karena antibodi bersifat heterolog (berbeda-beda), maka virus tidak dinetralkan sehingga bebas melakukan replikasi di dalam monosit. Monosit akan menghasilkan sitokin yang akan menyebabkan sel endotel teraktivasi sehingga mengekspresikan molekul adhesi seperti *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) dan *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1). Peningkatan TNF- α , IL-6, IL-1 β dan IL-1Ra ditemukan pada DBD. Disfungsi endotel juga ditandai dengan peningkatan permeabilitas vascular, peningkatan permeabilitas vascular ditandai dengan kebocoran plasma. Pada infeksi yang berat ekspresi VCAM-1 pada sel endotel berlebihan sehingga dilepaskan ke dalam sirkulasi dalam bentuk terlarut (soluble VCAM). Jadi, molekul adhesi terlarut

merupakan pertanda aktivasi atau kerusakan endotel, disamping itu diperkuat oleh pendapat Jufrie *et al.* (2000) terinfeksi monosit oleh karena virus demam berdarah menyebabkan pengaktifan berbagai faktor (mediator inflamasi), mediator yang terlibat adalah neutrofil (PMN), plasma cascade sistem (seperti sistem komplemen), dan sitokin yang memainkan peran penting dalam patogenesis infeksi virus demam berdarah.

Menurut Jufrie *et al.* (2000), PMN Neutrofil dilengkapi untuk menghancurkan mikroorganisme dengan cara fagositosis berbagai produk-produk yang beracun dan neutrofil juga dapat mensekresi proteinase (elastase) menyebabkan tingginya plasma elastase dan laktoferrin. Oleh karena banyaknya neutrofil elastase pada jaringan endotel demam berdarah, ini juga yang memacu terjadinya kerusakan endotel. PMN yang ditemukan dalam penelitian ini mengalami peningkatan dalam *whole saliva* dan cairan sulkus gingivanya, hal ini karena kerusakan sel-sel endotel dalam rongga mulut yang akan memacu terjadinya proses inflamasi yang akan mengaktifkan neutrofil sebagai salah satu penandanya. Karena itulah salah satu manifestasi yang ditimbulkan dari keadaan inflamasi adalah meningkatnya persentase kadar neutrofil. Sulkus gingiva dan *whole saliva* berisi cairan yang jumlahnya meningkat bila terdapat peradangan, dimana pada cairan sulkus gingiva yang meradang jumlah polimorfonuklear, leukosit, makrofag, limfosit, monosit, ion elektrolit, protein plasma, dan endotoksin bakteri bertambah banyak (Vindani, 2008).

Cairan rongga mulut yang terdiri dari cairan sulkus gingiva dan *whole saliva*, secara normal mengandung molekul – molekul kecil plasma protein yang merupakan mediator–mediator radang atau kerusakan jaringan lain didalam tubuh yang dengan cepat akan tersebar dalam cairan sulkus gingiva yang akan tersekresi dalam jumlah tertentu di rongga mulut (Ratnaningsih, 2005). Pada sulkus gingiva terdapat cairan sulkus gingiva yang komposisinya sama seperti di dalam plasma darah (Harty & Knox, 1995). Cairan sulkus gingiva merupakan eksudat inflamasi yang masuk ke dalam sulkus gingiva setelah melewati *junctional epithelium* (Carranza, *et al.*, 1990).

Fungsi cairan krevikuler gingiva atau cairan sulkus gingival (CSG) menurut Manson & Eley (1993) adalah membawa leukosit PMN dan makrofag yang dapat membunuh bakteri. Juga menghantarkan IgG, IgA, IgM dan faktor-faktor lain dari sistem imun. Neutrofil merupakan salah satu komponen dari sistem imun tubuh non spesifik yang terdepan dalam mencegah infeksi oleh berbagai mikroba seperti: bakteri, jamur, protozoa, virus dan sel-sel yang terinfeksi oleh virus (Miller, 2005). PMN adalah jenis leukosit terbanyak yang berperan pada fase awal respon inflamasi (Calder, 1998). PMN juga memiliki beberapa peran penting terhadap respon imun bawaan terhadap infeksi virus dengue (Junqueira, dkk., 1995). PMN yang keluar dari pembuluh darah akan menuju ke *junctional epithelium* yang kemudian akan masuk ke dalam cairan sulkus gingiva. Sehingga banyak sel PMN dalam sulkus gingiva.

Whole saliva merupakan campuran produk bermacam-macam kelenjar, yaitu kelenjar saliva minor dan kelenjar saliva mayor, ia kental, tidak berwarna, agak keruh yang mengandung air, mukoprotein, immunoglobulin, dan ion-ion anorganik, termasuk kalsium, kalium, natrium, klorida, dan sedikit sekali besi. Kelenjar saliva minor terdapat di mukosa dan bermuara langsung, atau melalui saluran pendek, ke permukaan epitel mulut. Kelenjar saliva mayor mencakup *kelenjar parotis, submandibularis, dan sublingual* (Fawcett, 2002). Sekretnya terdiri atas kelenjar parotis (25%), kelenjar submandibularis (75%), dan kelenjar sublingual (5%). Saliva merupakan sistem imun mukosa yang berfungsi mempertahankan homeostasis dalam rongga mulut, menghasilkan substansi tertentu seperti IgA, lisosim dan laktoferin. Juga ditemukan yang disebut badan-badan liur di dalam saliva, yang merupakan granulosit dan limfosit berdegenerasi yang berasal dari tonsila dan kelenjar limfa pada bagian belakang lidah (Junqueira, dkk., 1998). Saliva mengandung pula sel leukosit (sel makrofag, monosit, dan limfosit maupun sel PMN) yang berasal dari lidah ataupun cairan gingiva (Barid, dkk., 2007). Kelenjar saliva ini ditemukan berbagai komponen selular dan humoral, seperti PMN neutrofil, makrofag, limfosit dan sel plasma yang penting dalam respon imun alami (rifai, 2011). Sistem imun

alami adalah suatu mekanisme yang paling awal memberikan perlindungan segera untuk melawan infeksi. Pada penderita DBD ini mengalami kerusakan sel-sel endotel dalam rongga mulut yang akan memacu terjadinya proses peradangan. Pada saat terjadi proses peradangan, leukosit PMN meninggalkan pembuluh darah dengan bermigrasi melewati dinding (diapedesis, emigrasi) dan terlihat banyak pada ikat, *epithelial junctional*, dan sulkus gingiva. PMN dalam Cairan sulkus gingival tersebut akhirnya bermigrasi ke dalam *whole saliva* (Calder, 1998). Proses inilah yang menyebabkan sel PMN pada sulkus gingiva dan *whole saliva* DBD lebih banyak dari pada sampel normal.

Diharapkan hasil yang didapatkan pada penelitian ini bisa digunakan sebagai alternatif lain untuk mengetahui adanya peradangan dan membantu penegakan diagnosa secara dini pada penyakit DBD.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Adanya peningkatan migrasi *polymorphonuclear neutrophil* (PMN) dari cairan sulkus gingiva dan *whole saliva* terlihat dengan terdapat peningkatan jumlah sel PMN pada pasien DBD.
2. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini diharapkan bisa digunakan sebagai alternatif lain untuk mengetahui adanya peradangan dan membantu penegakan diagnosa secara dini pada penyakit demam berdarah

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang migrasi *polymorphonuclear neutrophil* (PMN) dari cairan sulkus gingiva dan *whole saliva* dengan jumlah sampel DBD yang lebih banyak .
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang deteksi migrasi *polymorphonuclear neutrophil* (PMN) dari sampel darah penderita DBD dengan cara pembuatan preparat hapusan darah, agar didapatkan perbandingan antara jumlah PMN dalam hapusan darah dan hapusan sulkus gingiva serta *whole saliva* penderita DBD.

DAFTAR PUSTAKA

- Barid, I., Indahyani, D.E., dan Rahayu, Y.C. 2007. *Biologi Mulut I*. Jember: Universitas Jember.
- Calder, P.C. 1998. Immunoregulator and Antiinflammatory Effect of n-3 Polynsaturated Fatty Acidc. *Braz J Med Biol Res*. Vol.31(2):24-28.
- Carranza, Newman, Takei, and Klokkevold. 2006. *Caranza's Clinical Periodontology*. 10th Edition. Philadelphia : WB Saunders Company.
- Chen, K., Pohan, H.T., dan Sinto, R. 2009. Diagnosis dan Terapi Cairan pada Demam Berdarah Dengue. *J. Medicinus*. Vol. 22 (1): 3-8.
- Christmas, Valeria, Berry, and Murphy. 2006. Ctycochrome P-450 4F18 is leukotrien in Mouse Polymorphonuclear Leukocyte. *J. Biol. Chem*, 281(11):718-996.
- Dharma, R., Hadinegoro, S.R., dan Priatni, I. 2006. *Disfungsi Endotel pada Demam Berdarah Dengue*. Makara Kesehatan. Vol.10(1):17-23.
- Dorland. 1996. *Kamus Kedokteran Dorland*, Alih bahasa : Tim Penerjemah EGC. Judul Asli *Dorland's Illustrated Medical Dictionary (1985)*. Jakarta : EGC.
- Effendi, Z. 2003. *Perananan Leukosit sebagai Antiinflamasi Alergik dalam Tubuh*. Medan : Sumatra Utara University Press.

- Espino, C. 2010. *Active Surveillance and Incidence Rate of Dengue Infection in a Cohort of High Risk Population in Maracay, Venezuela*. Venezuela: Department of Global Health College of Public Health University of South Florida.
- Fawcett, D.W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Gapersz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Bandung: C.V. Armico.
- Gard, P. 2001. *Human Pharmacology, Chapter IX*. Jakarta: EGC.
- Guyton, A.C., & Hall, J.E. 1997. *Textbook of Medical Physiology*. Disadur Irawan Setiawan L. MA Ken Atriatan Tengadi dan Alex Santoso. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Cetakan I. Jakarta: EGC.
- Hamada, Koga, Nishihara, and Fujiwara. 1988. Characterize and Immunobiologic Activity of Lipopolisaccharides from Periodontal Bacteria. *Adv. Dent. Res.* 2(2): 284-291.
- Hartanto, F. 2005. *Hubungan Golongan Darah O dengan Kejadian Syok pada Penderita Demam Berdarah Dengue*. Semarang: Diponegoro University Press.
- Harty, D. & Knox, K. 1995. Enzyme production by lactobacilli and the potential link with infective endocarditis. *J Appl Bacteriol* : Vol. 78(8):142-148.
- Hasibuan, S. 2002. *Keluhan Mulut Kering ditinjau dari Faktor Penyebab Manifestasi dan Penanggulangannya*. Universitas Sumatra Utara: USU University Press.
- Herniyati, Sutjiati, Harmono, Arina, dan Hikmah. 2008. *Diktat Kuliah Histologi*. Jember: FKG Universitas Jember.

- Indriyanti, R. 2007. *Kadar Interleukin 1 Beta pada Cairan Celah Gusi (CCG) sebagai Penanda Inflamasi Setelah Pemasangan Mahkota Baja Nirkarat pada Gigi Sulung Posterior*. Bandung: Padjajaran University Press.
- Juffrie, Meer, Hack, Haasnoot, Sutaryo, Veerman, and Thijs. 2000. Inflammatory Mediators in Dengue Virus Infection in Children and Its Relationship to Neutrophil Degranulation. *J Infect Immun.* 68 (2):702-707.
- Junqueira, James, Robert, Carneiro, dan Kelly. 1995. *Histologi Dasar Edisi 8*. Jakarta:EGC.
- Lawler, W., Ahmed, A., dan Hume, W.J. 2002. *Buku Pintar Patologi Untuk Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC.
- Lee, Foerster, Lukens, and Paraskevas, F. 1998. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Edisi 10. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. A Wolters Kluwer Company.
- Leeson, C. R., Leeson, T.S., dan Paparo, A.A. 1985. *Buku Ajar Histologi*. Edisi V. Terjemahan Tambajong, J. 1995. Jakarta: EGC.
- Lin, Ngunyen, Wang, Saadi, Gross, and Jeon. N.I. 2004. Effective Neutrophil Chemotaxis is Strongly Influenced by Mean IL -8 Concentration. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* 319: 576 -581.
- Manson, J.D. & Eley, B.M .1993. *Buku Ajar Periodonti (Outline of Periodontic)*. Diterjemahkan oleh :drg. Anastasia S. Editor: drg.Susianti K.Ed. Ke-2. Jakarta: Hipokrates.
- Miller, G.E. 2005. *Clinical Depression and Regulation of the Inflammatory Response During Acute Stress*. The American Psychosomatic Society. *J Psychosomatic Medicine.* 67:679–687.

- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Poloni, Oliveira, Alfonso, Galvao, Amarilla, Figueiredo, and Aquino. 2010. Detection of dengue virus in saliva and urine by real time RT-PCR. *Virology Journal*. 7:22-24.
- Potzinger, Garreti, Brander, Wabitsch, and Paccini. 2006. Developing Chemokine Mutant with Improved Proteoglycan Affinity and Knocked-out GPCR Activity as Anti Inflammatory Recombinant Drugs. *J Biochem. Soc. Transa.* 34(3): 435-437.
- Ratnaningsih, A. 2005. *Skor Kebocoran Vaskuler Sebagai Penanda Awal Terjadinya Syok pada Demam Berdarah Dengue*. Semarang : Diponegoro University Press.
- Rifai, M. 2011. *Sejarah dan Konsep Umum Immunologi*. Malang: PT. Grafindo Persada.
- Roslida, A.H. & Zuraini, A. 2008. Anti-Inflammatory and Anti-nociceptive Activities of The Ethanolic Extract of *Pluchea Indica* (L) Less Leaf. Selangor : Medicine Faculty, Putra Malaysia University.
- Soegijanto, S. 2010. Patogenesis dan Perubahan Patofisiologi Infeksi Virus Dengue. *J. Biol. Chem.* Vol.1(3):26-29.
- Vindani, D. 2008. *Cairan Sulkus Gingiva dan Peranannya dalam Bidang Kedokteran Gigi*. Makara Kesehatan. Vol.1(2):56-59.
- Wahjudi, P., Hartanti, R.I., dan Cahyo, W.H. 2006. Frekuensi dan Distribusi Kasus Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember Tahun 2004 sampai dengan Tahun 2006. *J Biomed.* Vol. 1 (1): 60-70.
- Watik, A. 2008. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Edisi I*. Jakarta: PT. Rajagrafindo Persada.

William, Adelson, Thomas, and Edes. 1989. Leukotrien B4 is Measurable in Serum of Smokers and Nonsmokers Thornton. *J Clinic chemist*. 35(3):459-460.

Wilson, T.G., Kornman., and Kennet, S. 1996. *Fundamental Of Periodontics*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Womack, M. 1993. *The yellow fever mosquito, Aedes aegypti*. Wing Beats, Vol. 5(4):4.

Lampiran A. Hasil Perhitungan Jumlah PMN

Sampel	Jumlah PMN			
	Whole Saliva		Sulkus Gingiva	
	Normal	DBD	Normal	DBD
1	30	44	36	72
2	32	42	41	46
3	28	61	38	66
4	41	41	30	76
5	36	40	34	58
6	30	55	36	64
7	32	35	41	70
8	28	58	38	72
9	41	42	30	68
10	36	36	34	70
Rata-rata	*33	*45	*36	*66

Lampiran B. Hasil Rata-Rata Jumlah PMN di Tiap Kelompok Sampel

No	Pengelompokan Sampel	Rata-Rata	Pembulatan
1	Normal <i>Whole saliva</i>	33,4	33
2	Normal sulkus gingiva	35,8	36
3	Demam berdarah <i>Whole saliva</i>	45,4	45
4	Demam berdarah sulkus gingiva	66,2	66

Lampiran C. Hasil Uji Analisis Data

C.1 Uji normalitas *Kolmogroff Smirnof*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PMN Sulkus	PMN Saliva
N		20	20
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	51.0000	6.2369
	Std. Deviation	16.91153	.72620
Most Extreme Differences	Absolute	.223	.169
	Positive	.223	.169
	Negative	-.179	-.098
Kolmogorov-Smirnov Z		.997	.754
Asymp. Sig. (2-tailed)		.274	.621

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

C.2 Uji Levene dan Uji Independent T-Test

a. Uji untuk whole saliva

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
PMN Saliva	Equal variances assumed	4.526	.047	3.639	18	.002	12.00000	3.29781	5.07156	18.92844
	Equal variances not assumed			3.639	13.680	.003	12.00000	3.29781	4.91137	19.08863

Uji Independent T-Test yang datanya telah ditransformasi

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
PMN Saliva	Equal variances assumed	2.427	.137	3.784	18	.001	.94233	.24900	.41920	1.46546
	Equal variances not assumed			3.784	15.080	.002	.94233	.24900	.41184	1.47282

b. Uji untuk sulkus gingiva

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
PMN Sulkus	Equal variances assumed	2.567	.127	10.113	18	.000	30.40000	3.00592	24.08480	36.71520
	Equal variances not assumed			10.113	12.520	.000	30.40000	3.00592	23.88071	36.91929

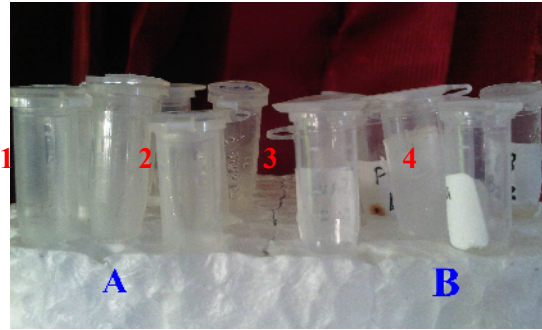
Lampiran D. Foto Alat dan Bahan Penelitian



Gambar D1. Alat-Alat Penelitian. 1.Tabung eppendorf; 2.Petridish tidak bersekat; 3. Sentrifuge; 4.Rak tabung reaksi; 5.Tabung reaksi; 6.Mikropipet; 7.Yellow tip; 8.Mikroskop cahaya; 9.Deck glass; 10.Obyek glass; 11.Rak pengecatan; 12.Handscoon; 13.Masker



Gambar D2. Bahan-Bahan Penelitian. 1.Cairan Phosfat Buffer Saline pH7; 2.Cat Giemsa; 3.Aquadest steril; 4.Methanol; 5.Buffer Giemsa



Gambar D3. Sampel Penelitian. A. Sampel sulkus gingival, 1= sampel normal dan 2= DBD;
B. Sampel *whole saliva*, 3= sampel normal dan 4= DBD