



**ANALISIS KEPADATAN SERAT KOLAGEN PADA LIGAMEN  
PERIODONTAL TIKUS *Sprague-Dawley* SETELAH  
TERPAPAR STRESOR RENJATAN LISTRIK**

**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

**Choiril Faizol Alam**

**NIM 111610101021**

**BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**

**SKRIPSI**

**ANALISIS KEPADATAN SERAT KOLAGEN PADA LIGAMEN  
PERIODONTAL TIKUS *Sprague-Dawley* SETELAH  
TERPAPAR STRESOR RENJATAN LISTRIK**

Oleh

Choiril Faizol Alam

NIM 111610101021

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Happy Harmono, M. Kes

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Alamsyah dan Ibunda Agustin Isnaini Arba'atin tercinta;
2. Guru-guru yang saya hormati;
3. Teman-teman sampai saat ini;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.  
(terjemahan Surat *Al Baqarah* ayat 216)\*

Apa saja yang menimpa kamu adalah disebabkan oleh perbuatan tanganmu sendiri.  
(terjemahan Surat *Asy Syuura* ayat 30)\*

Janganlah kamu bersikap lemah, dan janganlah (pula) kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi (derajatnya), jika kamu orang-orang yang beriman.  
(terjemahan Surat *Ali 'Imraan* ayat 139)\*

---

\*) Departemen Agama RI. 2000. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Jakarta: Diponegoro.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Choiril Faizol Alam

NIM : 111610101021

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Analisis Kepadatan Serat Kolagen pada Ligamen Periodontal Tikus *Sprague-Dawley* Setelah Terpapar Stresor Renjatan Listrik” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Maret 2015

Yang menyatakan,

Choiril Faizol Alam

NIM 111610101021

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Analisis Kepadatan Serat Kolagen pada Ligamen Periodontal Tikus *Sprague-Dawley* Setelah Terpapar Stresor Renjatan Listrik” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Senin, 9 Maret 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

Dr. drg. Banun Kusumawardani, M. Kes  
NIP 197005091999032001

drg. Agustin Wulan S.D., M.DSc  
NIP 19790814208122003

Pembimbing Ketua,

Pembimbing Anggota,

drg. Dwi Merry Ch. Robin, M. Kes  
NIP 197712232008122002

drg. Happy Harmono, M.Kes  
NIP 196709011997021001

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes  
NIP 195909061985032001

## RINGKASAN

**Analisis Kepadatan Serat Kolagen pada Ligamen Periodontal Tikus *Sprague-Dawley* Setelah Terpapar Stresor Renjatan Listrik;** Choiril Faizol Alam; 111610101021; 2015; 45 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Stres merupakan segala aksi tubuh manusia terhadap segala rangsangan, baik yang berasal dari luar maupun dari dalam tubuh itu sendiri. Stres disebabkan oleh stresor. Macam-macam stresor dapat berupa rangsangan fisik, kimia, fisiologis, psikologis, dan sosial. Seseorang yang terpapar stresor terus menerus dan berlebihan maka keseimbangan metabolisme di dalam tubuh akan terganggu sehingga dapat menimbulkan penyakit pada rongga mulut. Sehingga perlu dilakukan penelitian eksperimental laboratoris menggunakan hewan coba yang dapat menjelaskan hubungan sebab akibat antara ketebalan serat kolagen dengan stres secara jelas. Stresor yang diberikan merupakan stresor renjatan listrik yang diberikan dengan menggunakan alat yang diadaptasi dari “*electrical foot shock*” dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempeng yang terbuat dari kawat *stainless steel* di dasar kandang perlakuan. Oleh karena itu, peneliti melakukan penelitian eksperimental laboratoris menggunakan hewan coba yang bertujuan untuk menganalisis kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* setelah terpapar stresor renjatan listrik.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*, yaitu melakukan observasi atau pengukuran setelah perlakuan. Sampel yang digunakan sebanyak 24 ekor tikus *Sprague-Dawley* yang terbagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0), kelompok dengan pemberian stresor renjatan

listrik selama 7 hari (P1), kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 14 hari (P2), dan kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 28 hari (P3). Sampel dikorbankan pada hari ke-7 untuk P0 dan P1, hari ke 14 untuk P2, dan hari ke-28 untuk P3 kemudian dilanjutkan pengambilan jaringan, pembuatan preparat menggunakan pengecatan *Trichrome Mallory* serta pengukuran kepadatan serat kolagen. Hasil uji *Kruskal-Wallis* terdapat perbedaan bermakna pada tiap kelompok kemudian dilanjutkan uji *Mann-Whitney* didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna mengenai kepadatan serat kolagen antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* antara kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik dibandingkan kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari, selama 14 hari, dan selama 28 hari.



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Kepadatan Serat Kolagen pada Ligamen Periodontal Tikus *Sprague-Dawley* Setelah Terpapar Stresor Renjatan Listrik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Ayahanda Alamsyah dan Ibunda Agustin Isnaniah Arba'atin, yang memberikan kasih sayang tak terhingga, air mata dalam doa yang tiada henti untuk semua harapan dan masa depan putra-putrinya;
2. drg. Hj. Herniyati, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian hingga selesainya penulisan ini;
3. drg. Zahreni Hamzah, M.S, yang telah memberikan perhatian dan motivasi kepada saya;
4. drg. Dwi Merry Ch, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Happy Harmono, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberi bimbingan, saran, motivasi dan meluangkan waktu untuk membimbing penyusunan skripsi ini;
5. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M. Kes, selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Agustin Wulan Suci, M. DSc, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberi masukan, saran dan waktu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Peni Pudjiastuti, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, dan memotivasi penulis selama masa studi;

7. Kakakku Andhika Alfiansyah dan Bidari Firdausi yang selalu memotivasiku dan menjadi tempat curhat, pendengar setia kisah hidupku serta adikku Difa Minal Uyun tersayang;
8. Guru-guru yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya;
9. Seluruh Analis dan Karyawan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini;
10. Teman seperjuangan Erfan Ramadhana P, Vananda D K, Eddy Yudha Y, Bimbi V, terima kasih atas kerja sama, canda tawa, bantuan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini;
11. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini;

Penulis menyadari kesempurnaan hanya milik Allah SWT, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk membantu melengkapi dan menyempurnakan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya dalam bidang kedokteran gigi.

Jember, Maret 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

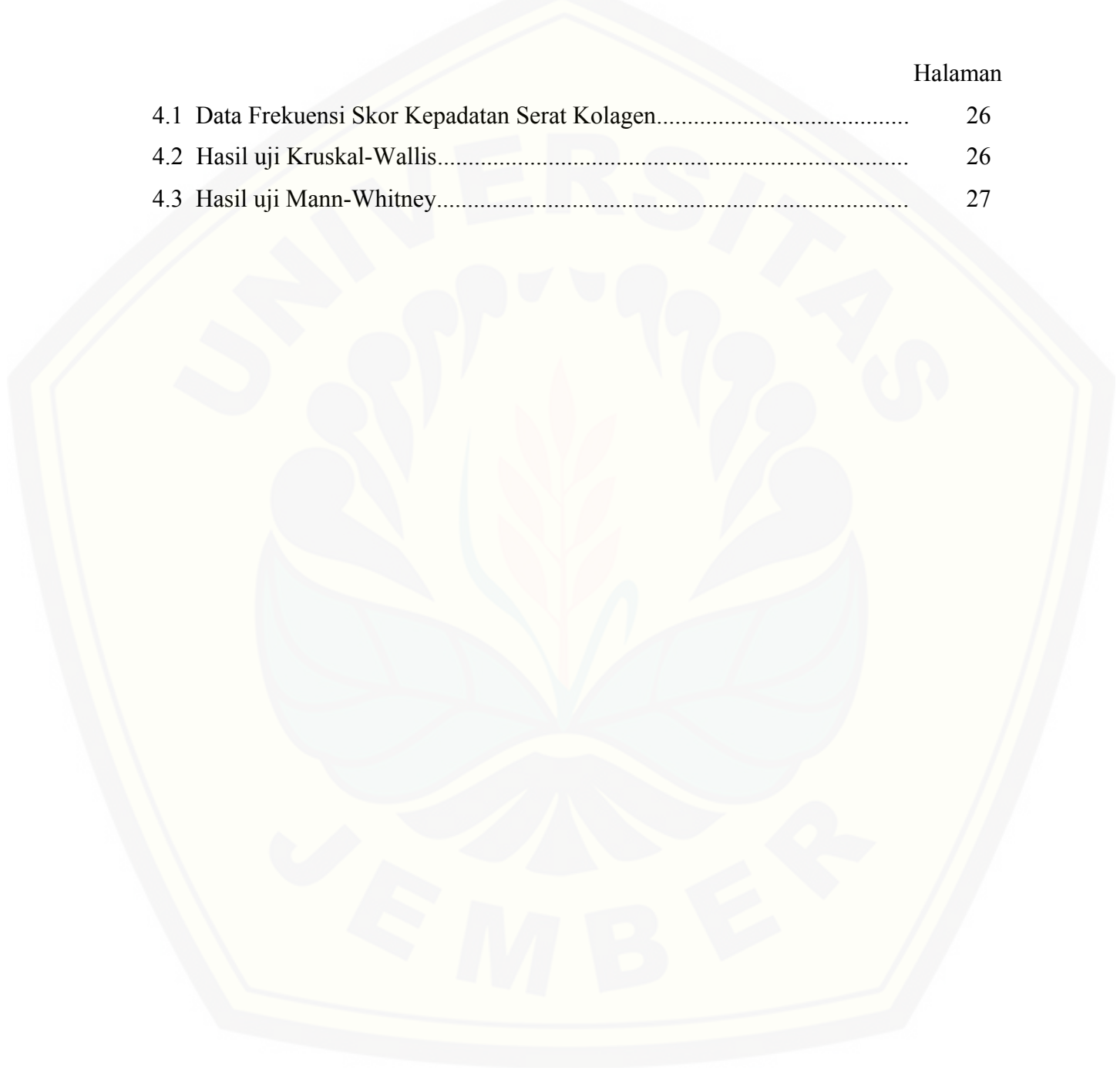
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERBIMBINGAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</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 Penelitian</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	3
<b>2.1 Stres</b> .....	3
2.1.1 Definisi Stres.....	3
2.1.2 Penyebab Stres.....	3
2.1.3 Mekanisme Stres .....	4
2.1.4 Stresor Rasa Sakit (Renjatan Listrik).....	5

2.1.5 Pengaruh Stres (Hormon Kortisol) terhadap Rongga Mulut ....	6
2.1.6 Pengaruh Hormon Kortisol Terhadap Metabolisme .....	6
<b>2.2 Ligamen Periodontal</b> .....	8
<b>2.3 Kolagen</b> .....	9
2.3.1 Struktur dan Macam Serat Kolagen.....	9
<b>2.4 Kerangka Konseptual Penelitian</b> .....	14
<b>2.5 Hipotesis</b> .....	14
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	15
<b>3.1 Jenis, Tempat, dan Waktu Penelitian</b> .....	15
3.1.1 Jenis Penelitian .....	15
3.1.2 Tempat Penelitian .....	15
3.1.3 Waktu Penelitian .....	15
<b>3.2 Variabel Penelitian</b> .....	15
3.2.1 Variabel Bebas .....	15
3.2.2 Variabel Terikat .....	15
3.2.3 Variabel Terkendali .....	15
<b>3.3 Definisi Operasional Penelitian</b> .....	16
3.3.1 Stres .....	16
3.3.2 Stresor Renjatan Listrik.....	16
3.3.3 Kepadatan Serat Kolagen.....	16
<b>3.4 Populasi dan Subyek Sampel Penelitian</b> .....	16
3.4.1 Populasi .....	16
3.4.2 Subyek Sampel .....	17
3.4.3 Besar Subyek Sampel .....	17
<b>3.5 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	17
3.5.1 Alat Penelitian.....	17
3.5.2 Bahan Penelitian.....	18

<b>3.6 Prosedur Penelitian</b> .....	18
3.6.1 <i>Ethical Clearence</i> .....	18
3.6.2 Persiapan Hewan Coba .....	19
3.6.3 Pengelompokan Hewan Coba .....	19
3.6.4 Perlakuan Hewan Coba .....	19
3.6.5 Pembuatan Sediaan Kepadatan Serat Kolagen.....	20
3.6.6 Pengukuran Kepadatan Serat Kolagen .....	22
<b>3.7 Analisis Data</b> .....	23
<b>3.8 Skema Penelitian</b> .....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	25
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	25
4.1.1 Data Hasil Pengamatan .....	25
4.1.2 Data Hasil Penelitian.....	26
4.1.3 Analisis Data .....	26
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	27
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	31
5.1.1 Kesimpulan .....	31
5.1.2 Saran .....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	32
<b>LAMPIRAN</b> .....	34

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Data Frekuensi Skor Kepadatan Serat Kolagen.....	26
4.2 Hasil uji Kruskal-Wallis.....	26
4.3 Hasil uji Mann-Whitney.....	27



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Serat Kolagen dengan Pewarnaan <i>Thrichrome Mallory</i> .....	10
2.2 Proses Sintesis Kolagen.....	11
2.3 Gambaran Kolagen Tipe 1.....	12
2.4 Kerangka Konsep.....	14
3.1 Kriteria Skor Kepadatan Serat Kolagen.....	22
3.2 Skema Penelitian.....	24
4.1 Histologis Ligamen Periodontal tikus <i>Sprague dawley</i> dengan pewarnaan <i>Thrichrome Mallory</i> (pembesaran 400x)	

25

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Perhitungan Besar Subyek Sampel.....	34
B. <i>Ethical Clearance</i> .....	35
C. Data Hasil Penelitian .....	36
D. Uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney.....	39
E. Alat yang digunakan dalam Penelitian.....	44
F. Bahan yang digunakan dalam penelitian .....	46



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Stres kerja merupakan masalah yang sering dijumpai dan menjadi perhatian di bidang kesehatan dan keselamatan kerja. Masalah yang dialami pekerja dapat menghasilkan ketidakstabilan psikologis dan mempengaruhi produktivitas. Berdasarkan “model stres kerja dan kesehatan” dari *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH), kesehatan dapat dipengaruhi oleh berbagai stresor di lingkungan kerja sehingga menimbulkan reaksi psikis, fisiologis dan perilaku (Afrianti, 2011).

Stresor dapat menyebabkan perubahan negatif dalam tubuh yang disebut *distress* (Sopiah, 2008). Perubahan *distress* ini oleh tubuh direspon dengan mengaktifkan sistem *hipotalamus–pituitary–adrenal axis* (HPA axis). Aktifnya HPA axis menimbulkan *conditioning stimuli* pada alur *limbic–hipotalamus–pituitary–adrenal axis* (LHPA axis), kemudian merangsang hipotalamus untuk mensekresi hormon *corticotrophin releasing hormone* (CRH), dan merangsang kelenjar pituitari untuk sekresi *adrenocorticotropin hormone* (ACTH). Peningkatan sekresi ACTH, menyebabkan meningkatnya sekresi hormon glukokortikoid, yaitu kortisol (Sugiharto, 2012).

Peningkatan hormon kortisol dapat menurunkan respon imunitas tubuh sehingga tubuh lebih rentan terhadap penyakit dan infeksi (Talbot, 2002). Hal ini akan menyebabkan kerusakan pada jaringan ikat kolagen pada jaringan periodontal. Struktur jaringan periodontal terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar. Ligamen periodontal merupakan jaringan ikat serat kolagen yang mengelilingi dan melekatkan gigi pada prosesus alveolar dan menahan beban yang diterima oleh gigi untuk diteruskan ke tulang pendukungnya. Kolagen pada ligamen

periodontal adalah tipe I (80%) dan tipe III (20%) (Jain *et al.*, 2014). Penurunan sintesis kolagen pada ligamen periodontal diduga dapat menyebabkan fungsi pengunyahan menjadi kurang optimal.

Penelitian Chandna (2010) menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara stresor psikologis dengan kerusakan pada jaringan periodontal. Akan tetapi pengaruh induksi stresor dengan stres yang berbeda-beda terutama stresor psikologis fisik masih belum dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin melakukan penelitian tentang perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* setelah terpapar stresor renjatan listrik. Jenis stresor psikologis fisik yang digunakan adalah stresor rasa sakit berupa renjatan listrik menggunakan hewan coba tikus *Sprague-Dawley*. Renjatan listrik yang diberikan dengan menggunakan alat yang diadaptasi dari *electrical foot shock* dengan cara mengalirkan arus listrik sebesar 2-8 mA, tegangan listrik 48 Volt dengan frekuensi 0,5 Hz selama 30 menit setiap hari melalui lempeng yang terbuat dari kawat *stainless steel* di dasar kandang perlakuan (Xin dkk, 2012).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah terdapat perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* setelah terpapar stresor renjatan listrik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* setelah terpapar stresor renjatan listrik?

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stres terhadap perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal

2. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Stres

#### 2.1.1 Definisi Stres

Hans Selye dalam Hokardi (2013) stres didefinisikan sebagai stimulus eksternal yang kuat baik fisiologis dan psikologis yang menyebabkan respon fisiologis dalam tubuh seseorang. Sedangkan Beehr dan Newman dalam Putra (2010) mendefinisikan stres sebagai kondisi yang muncul dari interaksi antara manusia dan pekerjaan serta dikarakterisasikan oleh perubahan manusia yang memaksa untuk menyimpang dari fungsi normal mereka. Definisi fisiologi stres adalah stres dapat menyebabkan deregulasi sistem imun, dimediasi oleh *HPA axis*. Dalam tinjauan psikologi, stres diartikan sebagai suatu keadaan psikologis dimana seseorang merasa tertekan oleh tekanan psikologis dan tekanan ini dapat mengganggu fungsi psikologis seseorang secara umum (Kawuryan, 2009). Dari beberapa definisi stres yang ada dapat disimpulkan bahwa stres merupakan reaksi respon tubuh terhadap paparan stresor.

#### 2.1.2 Penyebab stres

Stresor adalah faktor-faktor yang dapat menimbulkan stres. Secara umum, Alloy, dkk (dalam Kawuryan, 2009) menggolongkan stresor dalam tiga golongan, yaitu :

1. Stresor fisik-biologik, misalnya : kondisi dingin, panas, infeksi, rasa nyeri, pukulan
2. Stresor psikologis, misalnya : perasaan takut, khawatir, cemas, marah, kecewa, kesepian, jatuh cinta
3. Stresor sosial budaya, misalnya menganggur, perceraian, perselisihan.

Sherwood (2001) menyatakan bahwa jenis-jenis rangsang pengganggu berikut ini menggambarkan beberapa faktor yang dapat menimbulkan stres yaitu fisik (trauma, pembedahan, panas, atau dingin hebat), kimia (penurunan pasokan O<sub>2</sub>, ketidak seimbangan asam basa), fisiologis (olahraga berat, syok perdarahan, nyeri), psikologis atau emosi (rasa cemas, ketakutan, kesedihan), dan sosial (konflik pribadi, perubahan gaya hidup).

### 2.1.3 Mekanisme Stres

Menurut Selye dalam Akitson (1999) respon tubuh menghadapi stimulus apapun yang mengakibatkan stres terjadi dalam tiga tahap yang diberi nama General Adaptation Syndrome (GAS).

Tahap 1 yaitu *Alarm stage*, hipotalamus di otak mengisyaratkan kepada kelenjar adrenal untuk melepaskan adrenalin ke aliran darah akibatnya denyut jantung meningkat dan pernapasan menjadi dangkal, tekanan darah naik, dan kapiler kulit serta visera menyempit. Hormon lain juga dilepaskan terutama ACTH (*adrenocorticotrophinhormone*) yang mengaktifkan kelenjar adrenal untuk mensekresi glukokortikoid, yaitu kortisol. Hormon kortisol akan berdampak pada menurunnya jumlah fibroblas yang akan mempengaruhi pembentukan serat kolagen menjadi berkurang.

Tahap 2 yaitu *Adaptation stage*, dalam tahap kedua ini respon stres mulai menghilang, kegiatan adrenokortikal ditingkatkan jika tubuh tetap dalam keadaan stres untuk waktu yang terlalu lama. Banyak penyakit yang timbul dalam tahap ini. Beberapa mungkin berhubungan dengan efek dari hormon glukokortikoid yang menghambat pembentukan antibodi, dan menurunkan pembentukan sel darah putih. Bagian lain dari tahap resistensi GAS adalah penekanan dari banyak fungsi tubuh yang berhubungan dengan perilaku seksual dan reproduksi. Pada pria, produksi sperma menurun, karena penurunan sekresi hormon seksual pria, pada wanita, siklus menstruasi terganggu atau tertekan.

Tahap 3 yaitu *Exhaustion stage* (reaksi kelelahan) tubuh tetap dalam tahap perlawanan tetapi jika berada di bawah tekanan, gejala baru mulai muncul. Akibatnya tubuh semakin rentan terhadap penyakit dan disfungsi organik dari banyak jenis, penyakit serta kondisi yang kita hubungkan dengan stres mulai memperlihatkan diri.

#### 2.1.4 Stresor Rasa Sakit (Renjatan Listrik)

Stresor rasa sakit menyebabkan sensasi nyeri atau gangguan sensasi yang menyakitkan atau menekan perasaan. Aplikasi stimulus dari stresor rasa sakit akan menimbulkan impuls atau gelombang rangsang pada organ-organ ujung saraf yang mempersepsi rasa sakit yaitu serat non-medula bebas. Keparahan rasa sakit yang dialami individu dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah jumlah serat saraf yang diaktifkan dan bukan perubahan besar impuls yang diterima serat saraf. Respon yang bervariasi terhadap stimulus sakit yang identik bukan disebabkan oleh perbedaan persepsi rasa sakit tetapi disebabkan oleh variasi reaksi rasa sakit. Reaksi rasa sakit adalah istilah yang digunakan untuk mendeskripsikan integrasi dan apresiasi rasa sakit pada sistem saraf sentral di korteks dan thalamus posterior (Howe, 1992).

Stresor renjatan listrik adalah suatu nyeri pada syaraf sensorik yang dialirkan listrik yang mengalir secara tiba-tiba melalui tubuh. Bahaya rejan listrik sangat besar, tubuh akan mengalami *ventricular fibrillation*, kemudian diikuti dengan kematian oleh karena itu perlu diketahui bahwa perubahan-perubahan yang timbul akibat rejan listrik sebagai metode pengamatan sehingga stres dapat dihindari (Gabriel, 1996).

Hampir semua jenis stres, apakah bersifat fisik atau neurogenik, menyebabkan peningkatan sekresi *ACTH* dengan segera dan bermakna oleh kelenjar hipofisis anterior yang diikuti dengan peningkatan sekresi hormon adrenokortikal berupa kortisol dalam waktu beberapa menit (Guyton dan Hall, 2007).

Alat yang digunakan adalah *electrical foot shock*. Alat tersebut berupa lempengan logam yang diletakkan pada dasar kandang dan dihubungkan dengan

adaptor arus listrik. Cara penggunaannya adalah, tikus diletakkan pada kandang yang diberi tutup, kemudian adaptor dinyalakan dan tombol ditekan selama kurang lebih dua detik untuk mengalirkan arus listrik, kemudian tombol dilepaskan dan adaptor dimatikan (Xin Lv *et al.*, 2012).

#### 2.1.5 Pengaruh Stres (Hormon Kortisol) terhadap Rongga Mulut

Stres seringkali menimbulkan perubahan di dalam rongga mulut. Hormon stres yaitu kortisol memiliki efek antiinflamasi dan immunosupresi, sehingga seringkali digunakan kortisol sintetik untuk menangani suatu penyakit autoimun dengan jangka waktu pemaparan yang pendek. Tetapi, jika tubuh mengalami stres yang berkepanjangan maka kadar kortisol pun akan meningkat dan tubuh terpapar kortisol dengan jangka waktu yang lama, hal ini akan menyebabkan penurunan respon imunitas tubuh sehingga tubuh lebih rentan terhadap penyakit dan infeksi, sehingga dapat menyebabkan resorpsi tulang, kerusakan jaringan, kehilangan perlekatan, serta dapat menghambat penyembuhan luka (Talbot, 2002).

Stres juga dapat menimbulkan rasa sakit di sekitar mulut, saat seseorang mengalami stres, cenderung mulut menggeretak dan menyebabkan tekanan berlebihan pada area mulut, sehingga menyebabkan sakit pada area sekitar mulut dan menimbulkan beberapa penyakit seperti sariawan dan Angular chelitis. Diikuti dengan meningkatnya hormon kortisol saat stres yang akan melemahkan sistem perlindungan tubuh dan memudahkan bakteri menyerang gingiva, pada akhirnya gingiva mengalami perdarahan dan menimbulkan ulcer pada gingiva (William, 2008).

#### 2.1.6 Pengaruh Hormon Kortisol Terhadap Metabolisme

Sekresi kortisol oleh korteks adrenal diatur oleh sistem umpan-balik negatif lengkung panjang yang melibatkan hipotalamus dan hipofisis anterior. Hormon ACTH dari hipofisis anterior merangsang korteks adrenal untuk mengeluarkan kortisol. Faktor utama lain yang independen terhadap, dan pada kenyataannya dapat mengalahkan kontrol umpan-balik negatif adalah stres (Sherwood, 2001).

Kortisol, glukokortikoid utama, berperan penting dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hormon kortisol memiliki beberapa efek terhadap sistem metabolisme tubuh maupun efek fisiologis lainnya.

a). Metabolisme karbohidrat

Hormon glukokortikoid merangsang glukoneogenesis yang mengacu pada perubahan sumber-sumber non karbohidrat seperti asam amino menjadi karbohidrat di hati. Terjadi di saat diantara waktu makan dan sewaktu puasa, saat tidak ada nutrien baru yang diserap dalam darah untuk digunakan dan disimpan, glikogen di hati akan terurai habis menjadi glukosa untuk dibebaskan dalam darah ( Sherwood, 2001).

Kortisol juga menyebabkan penurunan pemakaian glukosa oleh kebanyakan sel tubuh. Walaupun penyebab penurunan ini masih belum diketahui dengan jelas. Dugaan mekanisme ini didasarkan pada pengamatan yang menunjukkan bahwa glukokortikoid menekan oksidasi nikotinamid adenin dinukleotida (NADH) untuk membentuk  $\text{NAD}^+$ , karena NADH harus dioksidasi agar menimbulkan glikolisis, efek ini dapat berperan dalam mengurangi pemakaian glukosa oleh sel (Guyton dan Hall, 2007). Peningkatan kecepatan glukoneogenesis dan berkurangnya kecepatan pemakaian glukosa darah oleh sel-sel dapat meningkatkan konsentrasi glukosa darah. Peningkatan glukosa darah yang kadang cukup besar merupakan suatu keadaan yang disebut diabetes adrenal. Pada keadaan diabetes adrenal, pemberian insulin sedikit menurunkan tingginya konsentrasi glukosa darah.

b). Metabolisme lemak

Hormon glukokortikoid juga meningkatkan lipolisis atau penguraian cadangan lemak di jaringan adiposa, sehingga terjadi pembebasan asam-asam lemak dalam darah. Asam-asam lemak yang dimobilisasi ini dapat digunakan sebagai bahan bakar metabolik alternatif bagi jaringan yang dapat memanfaatkan sumber energi ini sebagai pengganti glukosa, sehingga glukosa dapat dihemat untuk otak (Sherwood, 2001).



### c). Metabolisme protein

Hormon glukokortikoid merangsang penguraian protein dibanyak jaringan, terutama otot. Dengan menguraikan protein otot menjadi asam-asam amino konstituennya kortisol akan meningkatkan kadar asam amino darah. Asam-asam amino yang dimobilisasai ini telah siap digunakan untuk glukoneogenesis atau dipakai ditempat lain yang memerlukannya, misalnya untuk memperbaiki jaringan yang rusak atau sintesis struktur sel yang baru (Sherwood, 2001).

## 2.2 Ligamen periodontal

Ligamen periodontal adalah suatu ikatan, yang menghubungkan dua buah tulang. Akar gigi berhubungan dengan soketnya pada tulang alveolar melalui struktur jaringan ikat yang disebut sebagai ligamen. Jaringan ini berlanjut pada gingiva dan berhubungan dengan ruang sumsum meneruskan jaringan vaskuler pada tulang (Manson, 1993).

Ligamen periodontal terdiri atas serat jaringan ikat berkolagen yang merupakan *principal fiber* tersusun dalam bentuk bundel-bundel dan mengikuti jalan berombak dengan penampakan longitudinal. Bagian ujung dari *principal fiber* yang masuk ke dalam sementum dan tulang akan berakhir sebagai *sharpey fiber*. Serat-serat fiber ini terdiri dari serat-serat tersendiri yang berlanjut menjadi jaringan beranastomase antara gigi dan tulang. Serat-serat fiber dari ligamen periodontal tersusun atas enam kelompok yang berkembang secara terangkai pada perkembangan akar yaitu : *transeptal fiber group*, *alveolar crest group*, *horizontal fiber group*, *oblique fiber group*, *apical fiber group* dan *interradikuler fiber group* (Carranza, 2006).

Bundel-bundel serabut kolagen masing-masing dibuat sebagai bahan utamanya adalah kolagen tipe I 80% dengan sedikit jumlah kolagen tipe III 20%. Masing-masing serabut kolagen kembali disusun oleh bundel-bundel tersendiri dari

molekul-molekul kolagen yang disekresi oleh fibroblast sebagai prokolagen alpha-helikal (Louis *et al.*, 2004).

Fibroblas yang membentuk kolagen pada bundel-bundel kolagen akan terus menyebar dan membentuk kembali bendel-bundel serat kolagen, yang kemudian mensekresikan dengan kolagen baru dan meresorpsi kolagen yang lebih tua, sehingga membentuk jaringan kerja yang kontinu dari serabut-serabut antara sementum dan tulang (Louis *et al.*, 2004).

### 2.3 Kolagen

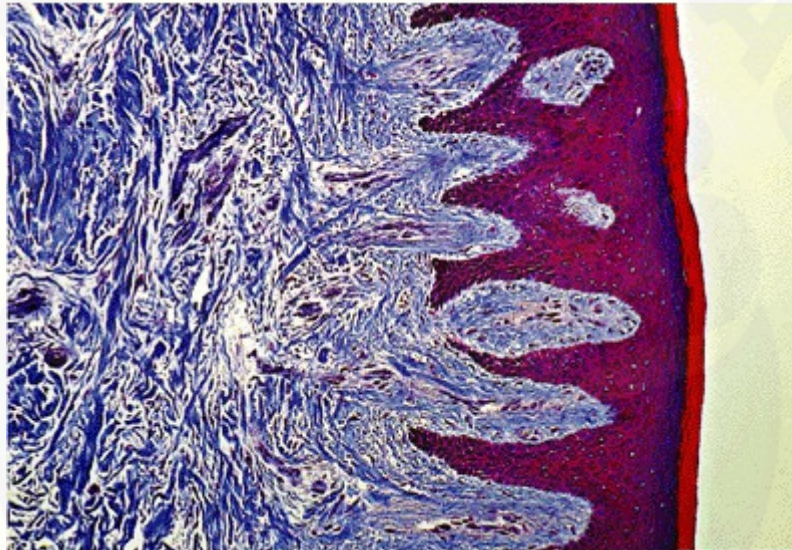
Kolagen merupakan protein fibrosa (berserat) yang paling banyak dan membentuk lebih dari 25% massa protein dalam tubuh manusia. Protein fibrosa ini merupakan sumber utama kekuatan struktural sel dan jaringan. Kulit mendapat kekuatan dan kelenturannya dari jalinan serat kolagen dan keratin yang bersilang, sementara tulang dan gigi diperkuat oleh jaringan serat kolagen yang analog. Kolagen juga terdapat pada jaringan ikat, misalnya ligamentum dan tendon (Robert *et al.*, 2012).

Secara struktural, jaringan ikat terdiri dari 3 golongan komponen, yaitu sel, serat, dan substansi dasar. Unsur pembentuk utama dari jaringan ikat ini adalah matriks ekstrasel yang terdiri dari kombinasi berbagai serat protein (kolagen, retikulin, dan elastin) dan substansi dasar (Junqueira dan Carneiro, 2007).

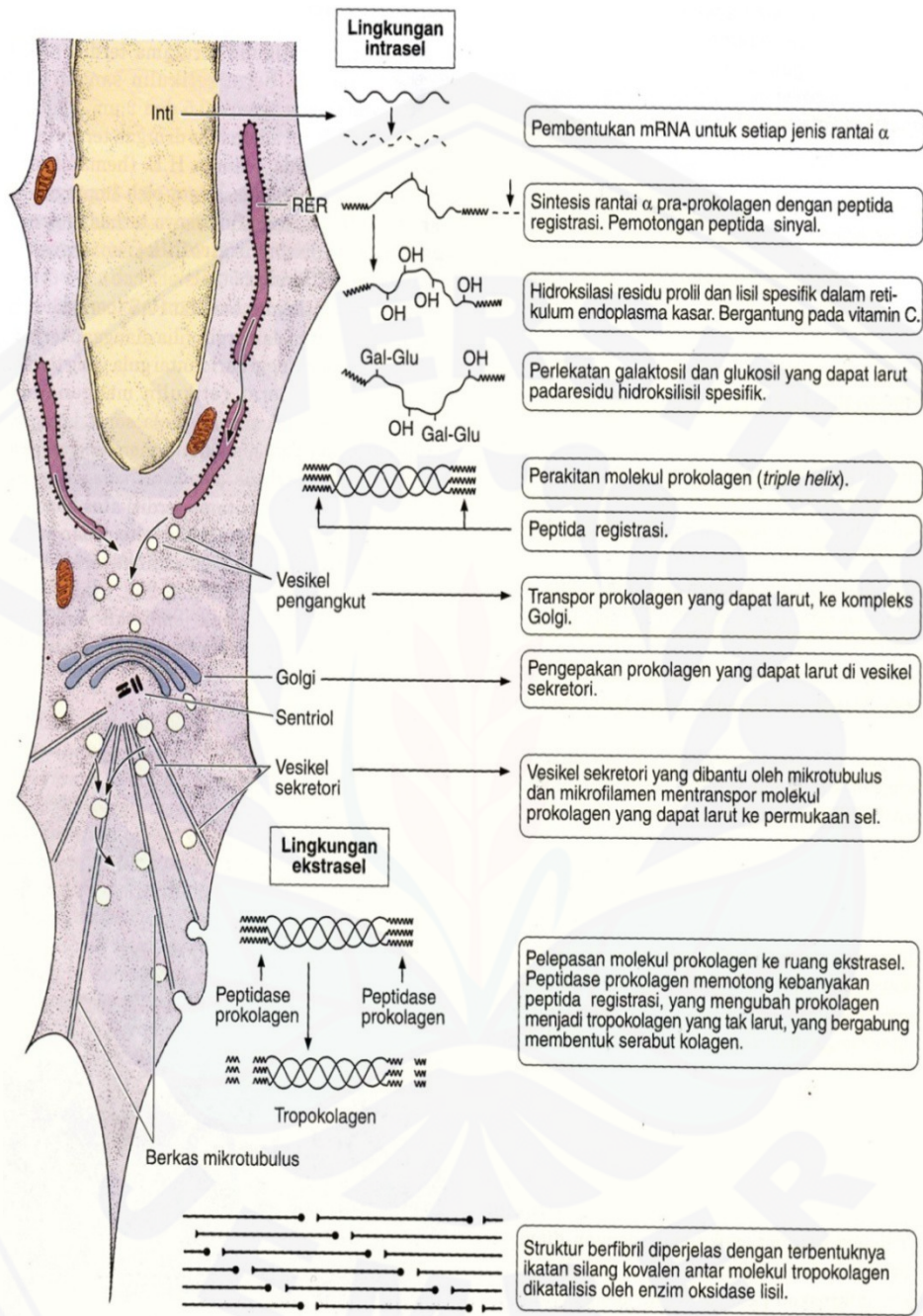
#### 2.3.1 Struktur dan Macam Kolagen

Pada sediaan tidak dipulas, kolagen merupakan benang yang tidak berwarna mempunyai diameter yang bervariasi antara 0,5 -10  $\mu\text{m}$  dengan panjang tidak terbatas, walaupun beberapa serat dapat bergabung bersama membentuk suatu berkas yang berukuran lebih besar. Sifat serat kolagen lurus atau sedikit bergelombang, panjangnya tidak tentu dan bisa dalam gabungan longgar atau padat tergantung tempat dan fungsinya. Kolagen dalam keadaan segar bersifat lunak dan mudah dibengkokkan, relatif tidak elastis dan sangat kuat (Leeson *et al.*, 1989).

Asam amino utama yang membentuk kolagen adalah glisin (33,5%), prolin (12%), dan hidroksiprolin (10%). Hidroksiprolin dan hidroksilisin adalah 2 asam amino yang khas pada kolagen. Unit protein berpolimerisasi membentuk serabut kolagen merupakan molekul panjang yang disebut tropokolagen. Panjang molekul ini  $\pm 280$  nm, sedangkan lebar  $\pm 1,5$  nm yang terdiri dari 3 rantai subunit polipeptida terpilin. Perbedaan struktur inilah yang menyebabkan adanya berbagai tipe kolagen. (Junqueira *et al.*, 1997 ). Pada sediaan histologi, kolagen terpulsa merah muda dengan eosin, biru dengan *Trichrome Mallory*, dan hijau dengan pulsan *Trichrome Masson* (Fawcett, 2002).



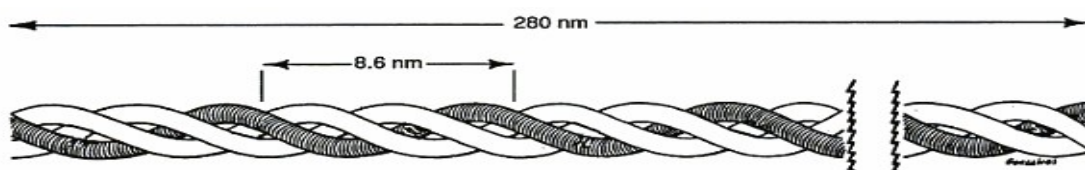
Gambar 2.1 Serat kolagen dengan warna biru menggunakan pewarnaan *Trichrome Mallory* (Perbesaran 400x) (Sumber: Mills, 2007).



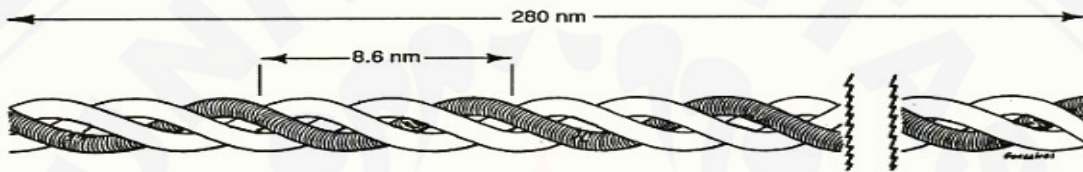
Gambar 2.2 Proses Sintesis kolagen (Sumber: Junquiera dan Carneiro, 1997)

Menurut Fawcett (2002), terdapat 12 tipe kolagen yaitu:

- Tipe I, jenis ini merupakan bentuk kolagen yang paling banyak ditemui, meliputi kurang lebih 90% kolagen dalam tubuh, dan terdiri atas dua rantai alfa-1 dan satu



rantai alfa-2. Kolagen ini terdapat pada dermis kulit, tendon, tulang, gigi, yang intinya kolagen berperan pada jaringan penyambung. Sel-sel yang berperan dalam sintesis kolagen tipe I adalah fibroblas, osteoblas dan odontoblas. Kolagen Tipe 1 disekresi ke ruang ekstraseluler dengan bentuk prokolagen, dan bentuk inilah yang kemudian membelah diri pada segmen terminal dan disebut tropokolagen. Tropokolagen bergabung dengan molekul tropokolagen lainnya membentuk filament kolagen. Filamen-filamen ini kemudian membentuk fibril. Fibril kolagen ini selanjutnya akan bergabung membentuk serabut kolagen.

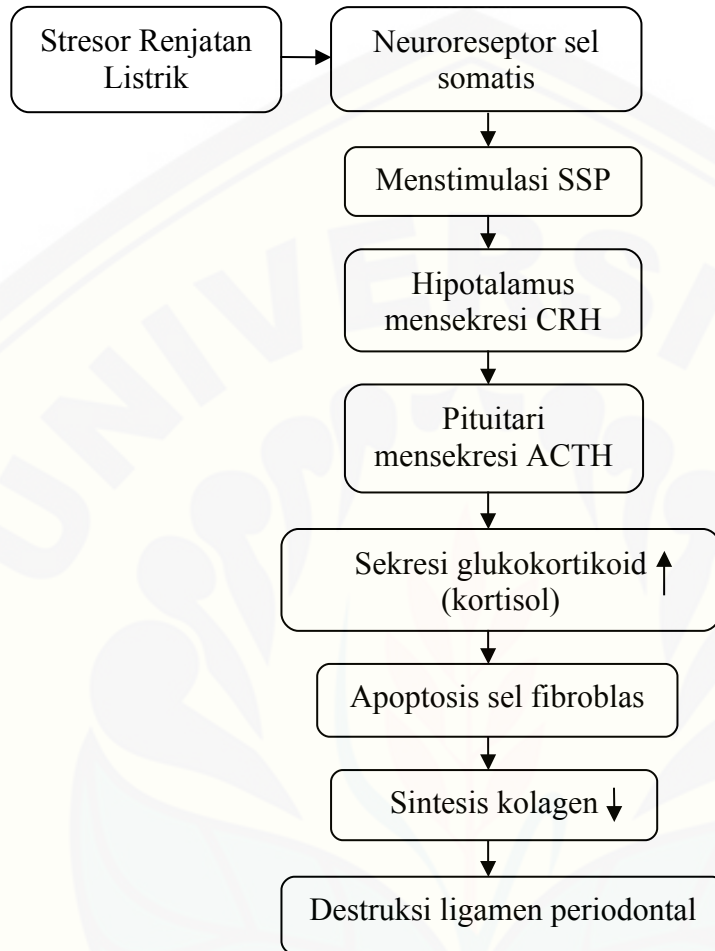


Gambar 2.3 Gambaran kolagen tipe 1 molekulnya terdiri atas 2 rantai alfa 1 (tampak polos) dan 1 rantai polipeptida alfa-2 (bergaris-garis) (Sumber: Junquiera & Carneiro, 1997)

- b. Tipe II, terdapat dalam tulang rawan hialin dan elastik. Kolagen ini berupa serabut sangat halus terbenam dalam banyak substansi dasar.
- c. Tipe III, banyak terdapat pada jaringan ikat longgar, dinding pembuluh darah, stroma bagian kelenjar, limpa, ginjal, dan uterus. Kolagen tipe I, II, dan III membentuk serat yang tampak dengan mikroskop dan disebut dengan kolagen interstisial.
- d. Tipe IV. Tipe ini terdapat dalam lamina basal dan diperkirakan merupakan hasil sel-sel yang langsung berhubungan dengan lamina tersebut, seperti sel epitel dan endotel (Leeson, 1989). Bersama laminin dan proteoglikan heparan sulfat membentuk rapat filamen halus yang merupakan penyokong fisik dari epitel dan *barier* filtrasi selektif bagi makromolekul
- e. Tipe V, tersebar luas tetapi hanya dalam jumlah kecil, berhubungan dengan lamina sel otot dan pembuluh darah.

- f. Tipe VI, molekul rantai pendek yang terdiri dari segmen tripel heliks dengan panjang 100 nm. Kolagen ini terdapat dalam jumlah kecil yang dapat ditemukan dalam ginjal, hati dan uterus.
- g. Tipe VII, berhubungan dengan lamina basal banyak epitel, namun paling banyak pada batas dermis dan epidermis. Molekul terbesar dari famili kolagen mencapai panjang hingga  $\pm 800$  nm.
- h. Tipe VIII, ditemukan pada produk sekresi sel endotel dan kadang-kadang disebut *kolagen endotelial*. Kolagen ini berhubungan erat dengan permukaan sel, tetapi manfaatnya masih belum jelas.
- i. Tipe IX, terutama terdapat dalam tulang rawan. Kolagen ini mendampingi serat kolagen tipe II dari jaringan ikat. Kolagen ini diduga mempertahankan susunan tiga dimensi dari serat kolagen tipe II dalam matriks yang berfungsi sebagai pengikat pada tempat pertemuan.
- j. Tipe X, kolagen ini juga terdapat pada tulang rawan dan ditemukan dalam matriks yang terlibat dalam pembentukan tulang endokondral dan diduga mengawali kalsifikasi matriks.
- k. Tipe XI, berhubungan dengan kolagen tipe II dalam tulang rawan namun fungsinya belum diketahui secara jelas.
- l. Tipe XII, tipe ini baru saja ditemukan yang menyerupai kolagen tipe IX namun sedikit yang diketahui tentang lokasi dalam jaringan dan juga fungsinya.

## 2.4 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

## 2.5 Hipotesa

Terdapat perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* tanpa pemberian stresor renjatan listrik dengan pemberian stresor renjatan listrik.

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

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

#### **3.1.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*, yaitu melakukan observasi atau pengukuran setelah perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

#### **3.1.2 Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### **3.1.3 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2013-Maret 2014.

### **3.2 Variabel Penelitian**

#### **3.2.1 Variabel Bebas**

Stresor renjatan listrik

#### **3.2.2 Variabel Terikat**

Kepadatan serat kolagen

#### **3.2.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah

- a. Minuman dan makanan tikus
- b. Cara pemeliharaan
- c. Voltage pemberian stresor renjatan listrik



- d. Kriteria sampel
- e. Waktu pemaparan stresor renjatan listrik

### 3.3 Definisi Operasional Penelitian

#### 3.3.1 Stres

Stres merupakan respon dari hewan coba ketika menerima paparan stresor renjatan listrik. Ditandai dengan bulu kaku dan berdiri terutama dibagian punggung, sering mengangkat kaki bagian depan kanan dan kiri dan suka mengusap-usap mulut.

#### 3.3.2 Stresor Renjatan Listrik

Stresor renjatan listrik yang diberikan dengan menggunakan alat yang diadaptasi dari “*electrical foot shock*”. Perlakuan stresor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempeng yang terbuat dari kawat stainless steel di dasar kandang perlakuan. Kandang perlakuan berukuran 64x64x16cm, terbuat dari plastik transparan dengan tebal 5 mm, dan terbagi menjadi 16 bagian kotak kecil berukuran 16x16x16 cm. Arus listrik dialirkan dengan tegangan 48 V, 0,5 Hz, 2-8 mA selama 30 menit per hari.

#### 3.3.3 Kepadatan Serat Kolagen

Kepadatan serat kolagen adalah perbandingan antara tebal serat kolagen dengan lebar jarak antar serat kolagen berdasarkan kriteria skor yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya binokuler pembesaran 400x dengan pewarnaan *Trichrome Mallory*.

### 3.4 Populasi dan Subyek Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus *Sprague dawley*

### 3.4.2 Subyek Sampel

Subyek sampel adalah populasi tikus *Sprague dawley* dengan kriteria :

1. Kondisi fisik sehat dan tidak mengalami kelainan fisik
2. Jenis kelamin jantan
3. Umur 3 bulan dengan berat badan 200-250 gram
4. Pemberian pakan yang seragam (tipe pp3 dan Br2).

### 3.4.3 Besar Subyek Sampel

Besar subyek sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari perhitungan rumus (Federer, 1963) sebagai berikut :

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

r = jumlah sampel

Berdasarkan perhitungan rumus besar subyek sampel diatas, diperoleh 6 sampel tiap kelompok (Lampiran A). Pengambilan sampel pada masing-masing kelompok diambil secara random.

## 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.5.1 Alat

- a. Kandang tikus
- b. Sarung tangan (Latex)
- c. Timbangan untuk meninmbang tikus
- d. “*Electric foot shock*” (Xin Lv *et al.*, 2012)
- e. *Blade scalpel*

- f. Gunting bedah
- g. Stopwatch (Diamond, Cina)
- h. Pinset
- i. Tabung untuk inhalasi
- j. *Waterbath*
- k. *Slide warmer*
- l. *Mikrotom*
- m. *Object glass*

### 3.5.2 Bahan

- a. Makanan dan minuman tikus (tipe pp3 dan Br2)
- b. Larutan eter
- c. Aquades
- d. Larutan Bouin's
- e. EDTA 10%
- f. Parafin
- g. Alkohol
- h. Larutan PBS
- i. Gabus
- j. Jarum pentul
- k. Kasa
- l. Spirtus
- m. Entelan
- n. Xylol

## 3.6 Prosedur Penelitian

### 3.6.1 *Ethical Clearence*

Sebelum dilakukan penelitian, maka hewan coba dan prosedur penelitian akan dilakukan pengurusan *ethical clearance* di Komisi Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

### 3.6.2 Tahap Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu, diberi makan konsentrat tipe pp3 dan Br2 dengan perbandingan 1:3 serta diberi air minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya), dan ditimbang kemudian dikelompokkan secara acak, jumlah tikus per kelompok sesuai besar sampel.

### 3.6.3 Tahap Pengelompokan Hewan Coba

Hewan coba tikus *Sprague-Dawley* sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing 6 ekor :

- a. P0 : kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik
- b. P1 : kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari
- c. P2 : kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 14 hari
- d. P3 : kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 28 hari.

Pengelompokan perlakuan hewan coba berdasarkan penelitian Xin *et al* (2012) bahwa hewan coba dikorbankan pada hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-28 untuk mengetahui perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* setelah terpapar stresor renjatan listrik.

### 3.6.4 Tahap Perlakuan Hewan Coba

Jumlah pemberian stresor renjatan listrik dengan *electrical foot shock* dengan kuat arus 2-8 mA, tegangan listrik 48 Volt dengan frekuensi 0,5 Hz selama 30 menit setiap hari berpedoman pada penelitian Xin *et al* (2012).

Masing-masing kelompok perlakuan, yaitu P1, P2, P3 diberi renjatan listrik selama 30 menit setiap hari. Untuk P1, setelah diberi perlakuan renjatan listrik selama

7 hari, kelompok ini dikorbankan pada hari ke-7 tersebut. Pengorbanan dilakukan dengan cara inhalasi menggunakan kloroform. Caranya tikus dimasukkan ke dalam tabung yang didalamnya terdapat kapas yang telah diberi kloroform, kemudian tabung ditutup, ditunggu hingga tikus lemas, setelah itu ambil tikus kemudian diletakkan di atas papan gabus kemudian dijepit dengan jarum untuk dikorbankan. Bagian tikus yang diambil adalah kiri tikus dari regio molar 1 sampai molar 3, pengambilan rahang mula-mula menggunakan scalpel untuk membedah bagian pipi sampai terlihat tulang rahang, kemudian menggunakan gunting bedah untuk memotong bagian rahang yang akan diambil. Untuk P2 dan P3, tahapan sama seperti P1, tetapi untuk P2 hewan coba dikorbankan pada hari ke-14, dan untuk P3 hewan coba dikorban pada hari ke-28.

### 3.6.5 Tahap Pembuatan Preparat Jaringan Periodontal

Jaringan dimasukkan ke dalam larutan fiksasi, yaitu menggunakan buffer formalin 10%. Lama fiksasi jaringan adalah 24 jam. Tujuan dilakukan fiksasi jaringan ini antara lain untuk mencegah terjadinya proses autolisis, mempertahankan morfologi sel seperti semula, mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Kemudian dilakukan tahap dekalsifikasi jaringan menggunakan larutan EDTA 15%, caranya jaringan diambil dari larutan fiksasi kemudian dicuci dengan menggunakan PBS, setelah itu jaringan dimasukkan dalam larutan dekalsifikasi yaitu EDTA 15% sampai dapat menembus jaringan lunak dan mudah dipotong. Rendaman larutan EDTA 15% diganti setiap 4 hari sekali. Berikutnya dilakukan tahapan dehidrasi jaringan menggunakan konsentrasi alkohol yang meningkat, yaitu alkohol 70% selama 15 menit, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 95% selama 2 jam, dan alkohol 100% yang diulang sebanyak 3 kali masing-masing selama 1 jam.

Tahap selanjutnya dilakukan clearing dengan menggunakan xylol selama 1 jam, 2 jam, dan terakhir selama 2 jam. Setelah clearing dilanjutkan dengan impregnasi, yaitu proses infiltrasi bahan embedding dalam jaringan pada suhu 56°-60°C. Jaringan yang sudah lunak dicuci dengan larutan PBS dan dibungkus dengan cassette yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel,

kemudian dimasukkan ke dalam parafin dengan titik didih 56°-58°C selama 2 jam yang diulang sebanyak 3 kali. Kemudian diteruskan dengan proses embedding yaitu penanaman jaringan dalam paraffin, tahap embedding yaitu proses penanaman jaringan ke dalam parafin dengan titik didih 56°-60°C pada alat cetak blok parafin (besi berbentuk L). Tahapannya adalah pertama-tama alat cetak disiapkan dan diletakkan pada permukaan yang rata, parafin cair dituangkan ke dalam alat cetak blok dengan titik didih 56°-60°C, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi ke dalamnya, dan diberi label identitas sampel. Ditunggu beberapa menit sampai parafin membeku, selanjutnya parafin blok sudah siap untuk dipotong, setelah dilepas dari alat cetak blok dan diletakkan pada balok (Sudiana, 1993).

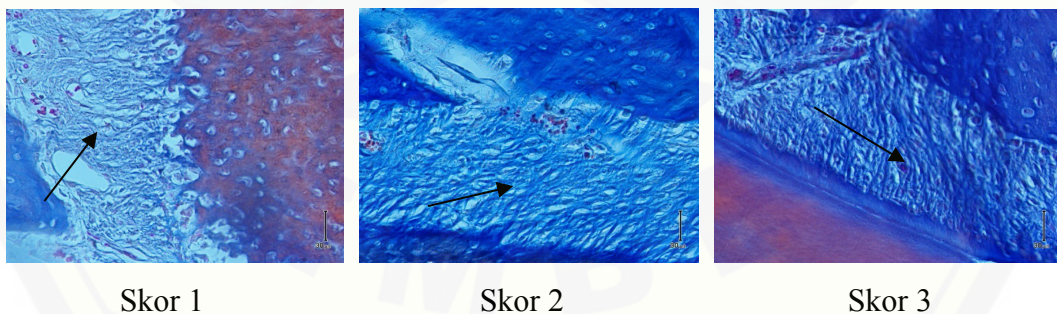
Dilanjutkan dengan proses pemotongan jaringan dengan menggunakan alat yang disebut mikrotom. Sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi xylol dengan arah tegak lurus. Ketebalan potongan jaringan dengan mikrotom diatur 5µm, dengan arah potongan secara transversal, sehingga terlihat pandangan mesio distal. Potongan jaringan diambil dengan kuas lalu diletakkan diatas permukaan air waterbath dengan temperatur tetap 56°-58°C hingga potongan jaringan mekar. Berikutnya potongan jaringan yang telah mekar diambil dengan gelas obyek dan dikeringkan diatas hotplate dengan suhu sekitar 30°-35°C, minimal selama 24 24 12 jam. Dan terakhir dilakukan pengecatan sediaan menggunakan pewarnaan *Trichrome Mallory*.

Pewarnaan *Trichrome Mallory* digunakan untuk melihat kepadatan serat kolagen. Tahap pertama dilakukan deparafinisasi pada irisan gelas obyek jaringan dengan xylol selama 3 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Kemudian gelas obyek jaringan dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat (100%, 96%, dan 70%) masing-masing selama 3 menit dan gelas obyek dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya gelas obyek direndam ke dalam larutan Mallory 1 yang berisi *acid fuchsin* 0,5 gr dan aquades 100 cc selama 3 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya gelas obyek direndam ke dalam larutan Mallory 2 yang berisi *phosphomolibdic acid* 1 gr dan aquades 100 cc selama 5 menit kemudian dicuci

dengan air mengalir. Selanjutnya *object glass* direndam ke dalam larutan Mallory 3 yang berisi *aniline blue* 0,5 gr, orange G 2,0 gr, *oxalid acid* 1,0 gr, dan aquades 100 cc selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu irisan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 95%, dan 100% kemudian dikeringkan. Gelas obyek kemudian direndam ke dalam larutan asam asetat 1% selama 2 menit. Kemudian dilakukan proses *clearing* pada jaringan dengan cara direndam dengan *xylol* selama 3 menit. Tahap terakhir dilakukan proses *mounting* menggunakan entelan dan ditutup dengan gelas penutup (Carson, 2009).

### 3.6.6 Tahap Pengukuran Kepadatan Serat Kolagen

Pengukuran kepadatan serat kolagen dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember berdasarkan kriteria skor kepadatan serat kolagen. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dari preparat yang sudah dibuat dengan perbesaran 400x. Pengukuran skor kepadatan serat kolagen dilakukan oleh 3 pengamat pada daerah ligamen periodontal gigi molar 1 rahang bawah akar mesiobukal yaitu pada daerah servikal, 1/3 tengah, dan apikal. Pengukuran tebal serat kolagen dan lebar jarak antar serat kolagen diukur di 3 lapang pandang untuk menentukan skor kepadatan serat kolagen tiap masing-masing preparat. Hasil pengukuran tersebut kemudian diambil nilai frekuensi tertinggi.



Gambar 3.1 Kepadatan serat kolagen dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dengan pembesaran 400x yang diukur berdasarkan kriteria skor.

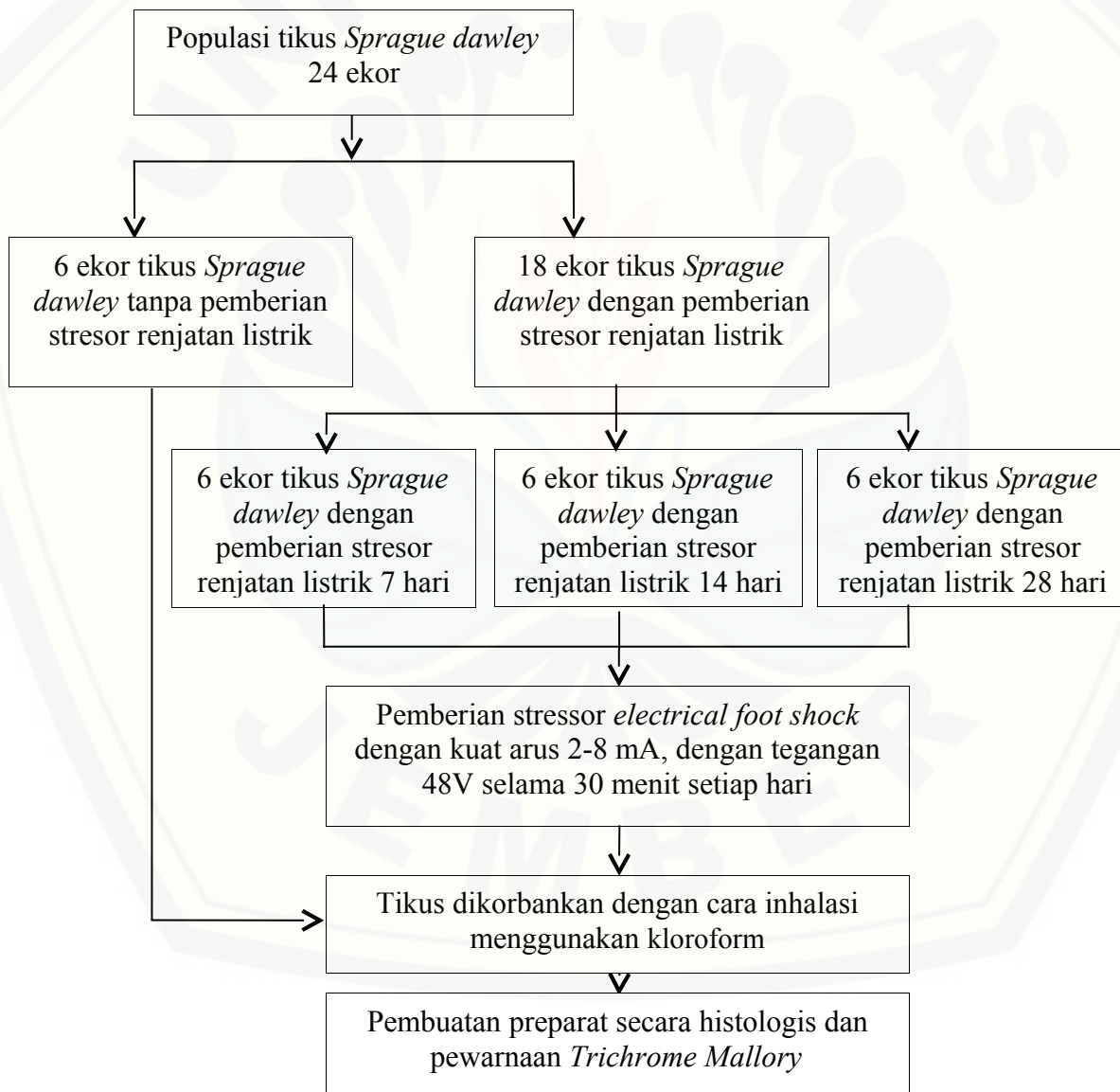
- a. Skor 1 = serat kolagen tipis; apabila ketebalan serat kolagen kurang dari lebar jarak antar serat kolagen
- b. Skor 2 = serat kolagen sedang; apabila ketebalan serat kolagen sama dengan lebar jarak antar serat kolagen
- c. Skor 3 = serat kolagen tebal; apabila ketebalan serat kolagen lebih lebar daripada jarak antar serat kolagen (Robin, 2006).

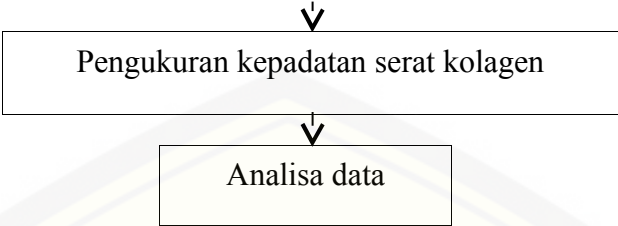
### 3.7 Analisis Data

Untuk menguji data yang diperoleh dari penelitian diatas peneliti menggunakan *software* SPSS 16.0. Berdasarkan perhitungan kepadatan serat kolagen kelompok sampel di atas diperoleh data dengan skala ordinal. Data dianalisis dengan menggunakan metode statistik non parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha < 0,05$ ).

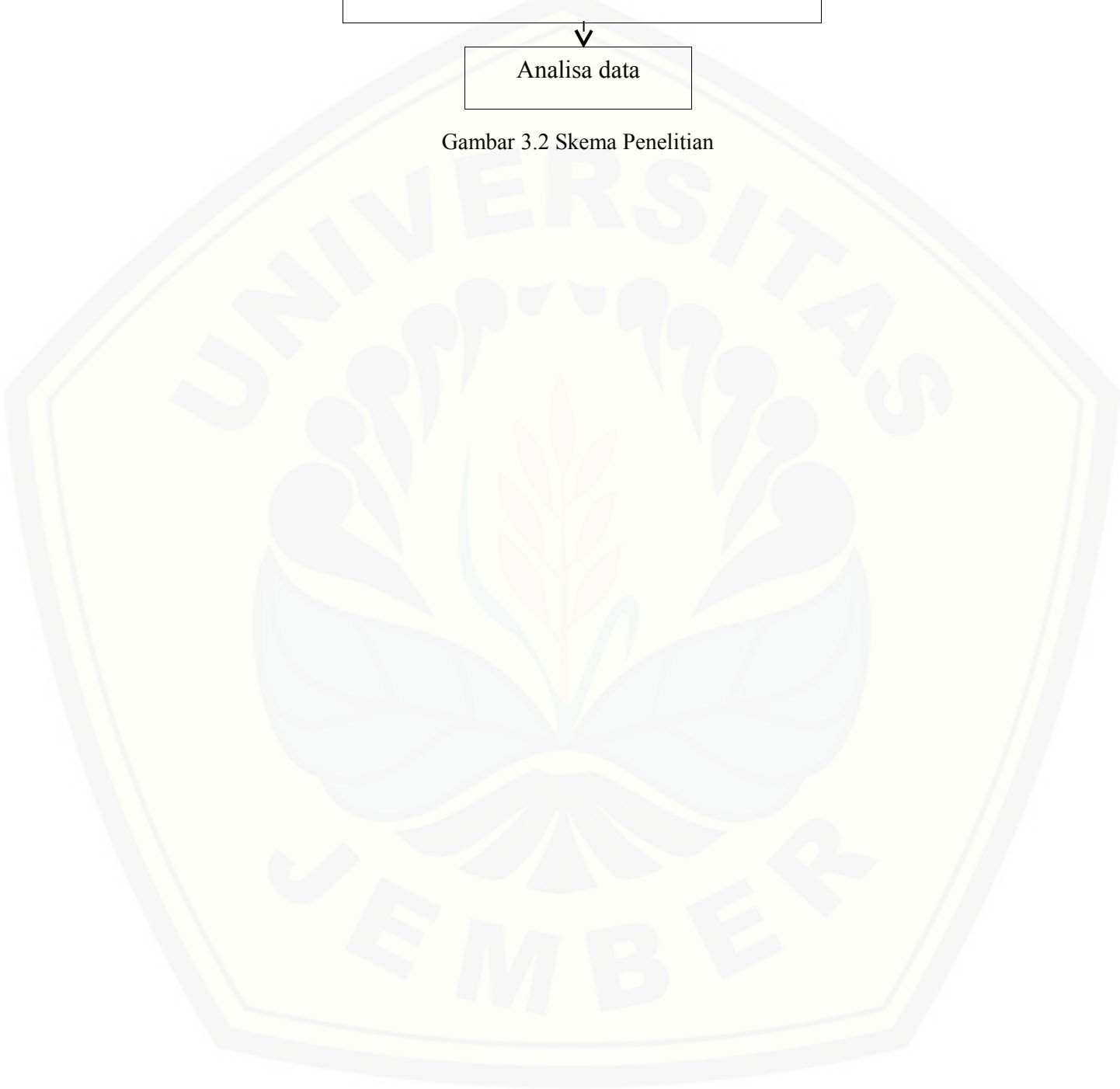


### 3.8 Skema Penelitian





Gambar 3.2 Skema Penelitian

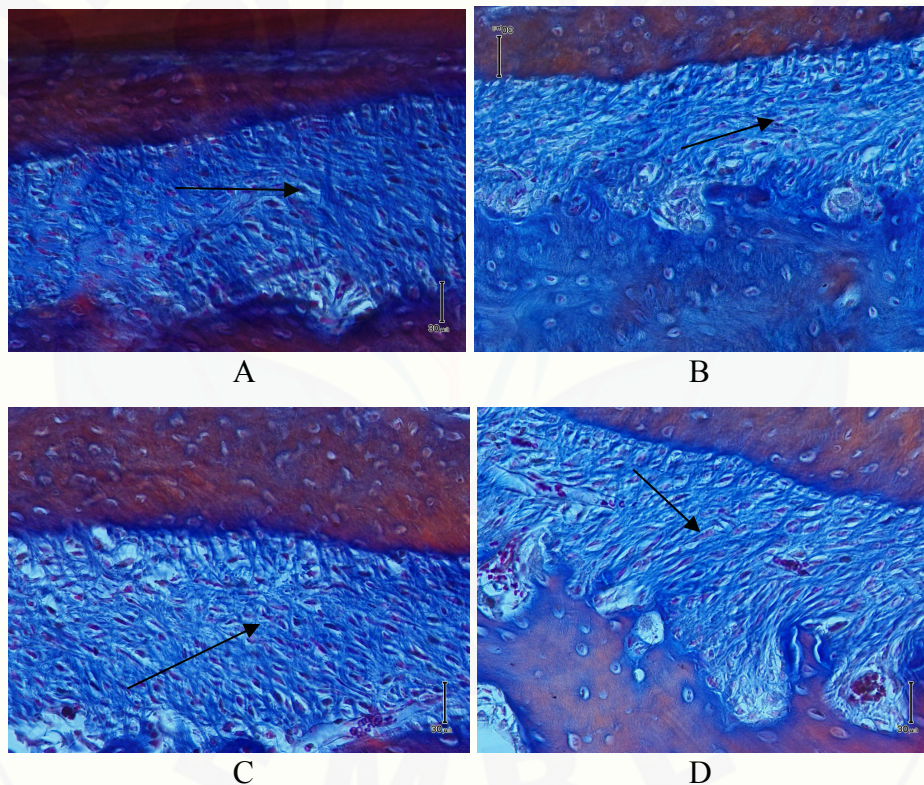


## BAB 4. HASIL dan PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Pengamatan

#### 4.1.1 Data Hasil Pengamatan

Hasil pengamatan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0), dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari (P1), selama 14 hari (P2), dan selama 28 hari (P3) sebagaimana gambar 4.1.



Gambar 4.1 Gambaran histologis ligamen periodontal daerah sepertiga tengah pada tikus *Sprague-Dawley* dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Tanda panah menunjukkan serat kolagen (A) kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0), (B) kelompok dengan pemberian

stresor renjatan listrik selama 7 hari (P1), (C) kelompok dengan pemberian renjatan listrik selama 14 hari (P2), (D) kelompok dengan pemberian renjatan listrik selama 28 hari (P3)

#### 4.1.2 Data Hasil Penelitian

Tabel 4.1 Frekuensi skor kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* dengan pemberian stresor renjatan listrik

Kelompok	N	Skor	Frekuensi
P0	6	1	0
		2	1
		3	5
P1	6	1	0
		2	4
		3	2
P2	6	1	0
		2	5
		3	1
P3	6	1	5
		2	1
		3	0

Data frekuensi skor kepadatan kolagen tikus *Sprague-Dawley* menunjukkan bahwa kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0) dengan frekuensi paling banyak pada skor 3 sebanyak 5 sampel, kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari (P1) dengan frekuensi paling banyak pada skor 2 sebanyak 4 sampel, kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 14 hari (P2) dengan frekuensi paling banyak pada skor 2 sebanyak 5 sampel, dan kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 28 hari (P3) dengan frekuensi paling banyak pada skor 1 sebanyak 5 sampel.

#### 4.1.3 Analisis Data

Hasil Uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney* antar kelompok perlakuan (Lampiran D).

Tabel 4.2 Hasil uji *Kruskal-Wallis*

<i>Chi-Square</i>	Df	<i>Asymp. Sig</i>
15,456	3	0,001

Tabel 4.3 Hasil uji *Mann-Whitney*

Uji <i>Mann-Whitney</i>	P0	P1	P2	P3
P0	-	0,180	0,065	0,002*
P1	0,180	-	0,669	0,009*
P2	0,065	0,669	-	0,009*
P3	0,002*	0,009*	0,009*	-

Tanda (\*) menunjukkan data berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada Tabel 4.2 didapatkan hasil terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok, artinya bahwa pemberian stresor renjatan listrik mempunyai pengaruh terhadap perbedaan kepadatan serat kolagen ( $p < 0,05$ ) pada masing-masing kelompok. Selanjutnya untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Mann-Whitney*.

Pada hasil uji *Mann-Whitney* pada tabel 4.3 didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna mengenai kepadatan serat kolagen antar kelompok pada kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0), kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari (P1), dan selama 14 hari (P2) dengan kelompok dengan pemberian listrik selama 28 hari (P3) ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian stresor renjatan listrik terhadap kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley*. Pengaruh pemberian stresor renjatan listrik terhadap hormon stres yang dilakukan oleh Mustofa (2012) menunjukkan bahwa peningkatan kadar kortisol terjadi pada hari ke-7, mulai terjadi penurunan pada hari ke-14, dan terjadi peningkatan kembali pada hari ke-28. Hasil penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi peningkatan kadar kortisol dengan cara mengukur kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal yang diduga bahwa peningkatan

kadar kortisol sebagai hormon stres akan menyebabkan penurunan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal.

Paparan stresor dapat mempengaruhi dua mekanisme tubuh, yaitu sistem hormonal dan neurotransmitter. Keduanya sama-sama merupakan mediator kimiawi, tapi berbeda dalam sumber dan sasarannya. Mekanisme hormonal dimulai dari hipotalamus yang menghasilkan dan melepaskan *corticotropic releasing hormone* (CRH) ke dalam aliran darah portal hipotalamus-hipofisis. CRH menyebabkan hipofisis anterior mengeluarkan *hormon adrenokortikotropin* (ACTH). Hormon ini beredar dalam darah ke korteks adrenal dan menyebabkan pelepasan hormon glukokortikoid, yaitu kortisol. Pelepasan kortisol yang melampaui nilai normal ini merupakan mekanisme pertahanan tubuh terhadap stres (Triwahyudi, 2010).

Pelepasan kortisol memiliki efek immunosupresi, apabila tubuh terpapar kortisol dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan penurunan respon imunitas tubuh sehingga tubuh lebih rentan terhadap penyakit dan infeksi (Talbot, 2002). Pembentukan antibodi IgA dan IgG juga akan terhambat dan berkurang sehingga kemampuan dalam melindungi dari infeksi kolonisasi patogen periodontal menurun (Chandna 2010). Hormon kortisol yang meningkat pada keadaan stres akan berdampak pada menurunnya jumlah fibroblas melalui apoptosis karena terjadi ketidakseimbangan pengaturan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis pada sel fibroblas (Herr, 2007). Fibroblas paling banyak terdapat dalam ligamen periodontal yang berfungsi menghasilkan serat dan substansi amorf. Penurunan jumlah fibroblas ini akan mempengaruhi pembentukan serat kolagen menjadi berkurang.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan kepadatan serat kolagen pada kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari (P1), kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 14 hari (P2), dan kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 28 hari (P3) dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0) terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini diduga pada kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik (P0) tidak mengalami stres, sedangkan pada kelompok dengan pemberian stresor mengalami

keadaan stres, sehingga keadaan tersebut diduga menyebabkan terjadi peningkatan jumlah hormon glukokortikoid yaitu kortisol dalam darah (Mustofa, 2012). Peningkatan kortisol ini dapat menyebabkan perubahan ekspresi gen dan apoptosis yang berlebihan pada sel fibroblas sehingga jumlahnya akan menurun (Yates dkk, 2013). Fibroblas merupakan salah satu sel jaringan ikat dalam rongga mulut yang paling khas dan berperan penting dalam perkembangan dan pembentukan struktur jaringan. Menurunnya jumlah fibroblas pada akan menghambat produksi kolagen yang berguna untuk membentuk kekuatan pada ligamen periodontal. Hal ini disebabkan hormon kortisol juga mempunyai pengaruh anti inflamasi yang dapat mempengaruhi komponen inflamasi dan fibroplasia, sehingga dapat mengganggu sintesis kolagen (Triyono, 2005).

Pada kelompok dengan pemberian stresor selama 7 hari (P1) menunjukkan kepadatan serat kolagen yang sedang, berbeda dengan kelompok tanpa pemberian stresor (P0) dengan kepadatan serat kolagen yang tebal. Hal ini diduga tikus yang mendapat stresor renjatan listrik mengalami fase stres yaitu waspada atau *alarm reaction*, pada fase ini terjadi pelepasan hormon kortisol yang berlebihan secara terus menerus (Hawari, 2001). Paparan kortisol yang berlebihan ini menyebabkan apoptosis pada sel fibroblas, sehingga jumlahnya menurun dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian stresor (P0) (Yates dkk, 2013).

Kelompok dengan pemberian stresor selama 14 hari (P2) menunjukkan kepadatan serat kolagen yang sedang, sama dengan kelompok dengan pemberian stresor selama 7 hari (P1). Hal ini diduga tikus berusaha beradaptasi dan memasuki fase stres yaitu fase *adaptation stage*. Pada fase ini, tubuh berusaha menyeimbangkan kondisi fisiologis ke keadaan normal dan tubuh mencoba mengatasi faktor-faktor penyebab stres (Hawari, 2001). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Asnar (2001), yakni dikatakan bahwa kadar kortisol yang terdapat dalam darah tikus yang diberi stresor renjatan listrik mengalami penurunan setelah 14 hari perlakuan. Kemungkinan hal tersebut disebabkan karena glukokortikoid reseptor (GR) tidak dapat mengikat sekresi kortisol yang berlebihan sehingga akan menimbulkan umpan

balik negatif dari kortisol tersebut untuk menstabilkan konsentrasi kortisol dalam plasma darah, sehingga akan menyebabkan efek inhibitorik pada hipotalamus dan hipofisis anterior, akibatnya akan menurunkan kadar kortisol (Guilliams, 2010). Menurunnya kadar kortisol tersebut menyebabkan peningkatan jumlah sel fibroblas pada kelompok P2 apabila dibandingkan dengan kelompok P1, tetapi jumlahnya tidak jauh berbeda. Hal ini diduga dikarenakan pada proses adaptasi tikus masih diberi stresor sehingga proses adaptasi tidak bekerja secara optimal dan menyebabkan peningkatan jumlah sel fibroblas tidak jauh berbeda dengan kelompok P1.

Kelompok dengan pemberian stresor selama 28 hari (P3) menunjukkan kepadatan serat kolagen yang tipis dibandingkan kelompok P1 dan P2. Perbedaan ini diduga terjadi karena pada kelompok P3 terjadi peningkatan kadar kortisol. Peningkatan kadar kortisol ini karena tikus telah mengalami stres berkepanjangan yang menyebabkan umpan balik negatif inhibitorik kortisol pada hipotalamus dan hipofisis anterior tidak berfungsi (Guilliams, 2010). Hal ini diduga menyebabkan kadar kortisol kembali meningkat, sehingga terjadi apoptosis pada sel fibroblas. Pada saat ini diduga tikus telah mengalami fase stres yaitu fase kelelahan atau *exhaustion stage*. Pada fase ini, cadangan energi telah menipis atau habis, akibatnya tubuh tidak mampu lagi menghadapi stres, tubuh sudah tidak dapat beradaptasi dan melawan (Hawari, 2001).

Dengan pemberian stresor renjatan listrik ini akan menyebabkan terjadinya stres, kemudian kortisol akan tersekresi dan mengakibatkan penurunan jumlah fibroblas pada kelompok P1, P2, dan P3. Menurunnya jumlah sel fibroblas pada saat keadaan stres akan menghambat produksi serat kolagen pada ligamen periodontal. Hal ini dapat mempengaruhi perlekatan gigi pada tulang alveolar, dan apabila kondisi ini berlanjut maka dapat mengakibatkan gigi tanggal prematur.



## **BAB 5. KESIMPULAN dan SARAN**

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus *Sprague-Dawley* antara kelompok tanpa pemberian stresor renjatan listrik dibandingkan kelompok dengan pemberian stresor renjatan listrik selama 7 hari, 14 hari, dan selama 28 hari.

### 5.2 Saran

Dalam penelitian ini, dapat diambil saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh stresor renjatan listrik terhadap komponen seluler yang lain pada jaringan periodontal
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang perawatan atau perlakuan yang dapat diberikan untuk mengatasi kerusakan pada ligamen periodontal dalam kondisi stres.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Alloy, L.B., Riskind, J.H., & Manos, M.J. 2004. *Stress and Physical Disorder*. 9<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill.
- Afrianti, R., Widyahening, I.S., Amri, Z., Kusumawardhani, A.A.A.A. 2011. Stresor Kerja dan Insomnia pada Petugas Pemadam Kebakaran di Jakarta Selatan. *J. Indon Med Assoc*, Vol. 61, No. (12).
- Asnar, E.T.P. 2011. Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respon Imun Mukosal Tikus yang Stres Akibat Stresor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psikoneurologi. *Disertasi Program Doktor, Program pasca Sarjana*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Atkinson, L.R., & Atkinson, C.R. 1999. *Pengantar Psikologi*. Edisi 8. Jakarta: Erlangga.
- Carranza, F.A. 2006. *Clinical Diagnosis*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Book Company.
- Carson, A., Freida, L., Christa, H. 2009. *Histotechnology: A Self-Instructional Text*. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press 3<sup>th</sup> ed.
- Chandna, S. & Bathla, M. 2010. Stress and Periodontium: A Review of Concepts. *J Oral Health Comm Dent* ;4(Spl)1-17-22.
- Fawcett, D. W. 2002. *Buku Ajar Histologi*, edisi 12. Jakarta: EGC.
- Federer, W. 1963. *Experimental Design, Theory and Application*. New York: Mac Millan.
- Gabriel, J.F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Guilliams, T.G., & Edwards, L. 2010. Chronic stress and the HPA axis : Clinical assessment and therapeutic considerations. *Point institute of nutraceutical research*. Vol. 9(2): 1-12.
- Guyton, A.C., & Jhon, E.H. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Jakarta: EGC.

- Hawari, D. 2001. *Manajemen Stres, Cemas, dan Depresi*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Herr, I., Gassler, N., Friess, H., Buchler, M.W. 2007. Regulation of differential pro- and anti-apoptotic signaling by glucocorticoids. *Apoptosis*. Vol. 12(2): 271-291.
- Hokardi, C.A. 2013. “Pengaruh Stres Akademik Terhadap Kondisi Jaringan Periodontal dan Kadar Hormon Kortisol dalam Cairan Krevikular Gingiva”. Tesis. Program Spesialis, Program pasca Sarjana. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Howe, L. G., & Whitehead, F. I. H. 1992. *Anastesi Lokal*. Edisi 3. Jakarta: Hipocrates.
- Junqueira, L. C. dan Carneiro, J. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. Alih bahasa oleh Jan Tambayong. Jakarta: EGC.
- Manson JD, Eley BM. 1993. Buku ajar periodonti. Jakarta: Hipokrates.
- Kawuryan, F. 2009. *Tinjauan Faktor-Faktor Psikologis dan Sosial dalam Mempengaruhi Stres*. Kudus : Universitas Muria.
- Leeson C.R, Leeson T.S, dan Paparo A.A. 1996. *Buku Teks Histologi*. Alih Bahasa: Yan Tambayong, dkk. Jakarta: EGC.
- Louis FR, Brian LM, Robert JG, cohen DW. *Anatomy, Development and Physiology of the Periodonsium. Periodontics: Medicine, Surgery, and Implants*. China: Elsevier Mosby; 2004, hal.6-14.
- Mills S.E. 2007. *Histology for Pathologists*. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Mustofa, E. 2012. Efek Stres Fisik dan Psikologis pada Kortisol, PGE , BAFF, IL-21, sIgA, dan Candidiasis 2 Vulvovaginal. *Jurnal Kedokteran Brawijaya Februari*, Vol. 27, No(1).
- Niven, N. 2002. *Psikologi Kesehatan Pengantar untuk Perawat dan Profesional Kesehatan*. Edisi 2. Alih bahasa Agung Waluyo. Judul asli: Pshycology : An Introduction For Nurses and Other Health Care Professional. Jakarta: EGC.
- Notoadmojo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Putra, Y.S. 2010. *Hubungan Antara Motivasi Belajar dan Sikap Mahasiswa STIE AMA Salatiga dalam Perkuliahan dengan Stres Sebagai Variabel Kontrol*. Salatiga: STIE AMA.
- Robert, K. M., Daryl, K. G., & Victor, W. R. 2012. *Biokimia Harper (Harper's Illustrated Biochemistry)*, edisi 27. Jakarta: EGC.
- Robin, D.M.C. 2006. *The Effect of Curcuminoid to the Collagen Fibers Density of Osteoarthritis of Temporomandibular Joint*. Department of Oral Pathologic, Dentistry Faculty of Jember University Jember.
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*, edisi 2. Jakarta: EGC.
- Sopiah. 2008. *Perilaku Organisasional*. Jakarta: C.V. Andi Offset.
- Sugiharto. 2012. Fisioneurohormonal pada Stresor Olahraga. *Jurnal Sains Psikologi* 2 (2) 54-66.
- Talbott, S. 2002. *The Cortisol And Connection*. 2nd edition. Minnesota : Hunter House inc: 104-110.
- Triwahyudi, Z. E. & Purwoko, Y. 2010. *Artikel Media Medika Muda*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Triyono, B. 2005. "Perbedaan Tampilan Kolagen di Sekitar Luka Insisi pada Tikus Wistar yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang Tidak Diberi Levobupivakain". Tesis Program spesialis. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Yates, A. L. G., & Cidlowski, J. A. 2013. Tissue-Specific Actions of Glucocorticoids on Apoptosis : A Double-Edged Sword. *Cells*. Vol. 2(2): 202-223.
- Xin Lv., Li, Q., Wu S., Sun J., Zhang M., Chen Y J., 2012. Psychological Stress Alters the Ultrastructure and Increase IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in Mandibular Condylar Cartilage. *Brazilian. J. Med. Biol. Res*. Vol. 45: 968-967.

**LAMPIRAN**

Lampiran A. Perhitungan Besar Subyek Sampel

Besar subyek sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut (Federer, 1963) :

Keterangan :

t = jumlah kelompok

r = jumlah sampel

Maka hasil perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut:

$$(4-1) (r-1) \geq 15$$

$$3 (r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 5$$

$$r \geq 6$$

Lampiran B. *Ethical Clearance*





**KOMISI ETIK PENELITIAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

**No : 275-KE**

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

**PENELITIAN BERJUDUL** : Peningkatan IP3, TGF-Beta, HSP-60, HSP-90 dan Caspase-3 Sel Puncak Mesenkimal Ligamen Periodontal Pada Mobilitas Gigi Tikus Sprague Dawley Yang Mengalami Kondisi Distress Kerja (Pendekatan Psikoneuroimunologi)

**PENELITI UTAMA** : Zahreni Hamzah

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN** : Program Studi Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga


**DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Surabaya, 2 Agustus 2013

Mengetahui,  
Dekan FKH-Unair,

  
Prof. Romziah Sidik, Ph.D., Drh.  
NIP. 195312161978062001

Ketua,

  
Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes., Drh.  
NIP. 196609201992031003

Lampiran C. Data Hasil Penelitian

Kelompok P0

Tikus	Tempat	Pengamat			
		P1	P2	P3	
P0.1	Servikal	3	3	3	3
	Sepertiga tengah	3	3	3	
	apikal	3	3	3	
P0.2	Servikal	3	2	3	3
	Sepertiga tengah	3	3	3	
	apikal	1	2	2	
P0.3	Servikal	3	3	3	3
	Sepertiga tengah	3	3	3	
	apikal	3	3	3	
P0.4	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	1	1	1	
	apikal	2	2	2	
P0.5	Servikal	3	3	3	3
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	3	3	3	
P0.6	Servikal	2	2	2	3
	Sepertiga tengah	3	3	3	
	apikal	2	3	3	

Kelompok P1

Tikus	Tempat	Pengamat			
		P1	P2	P3	
P1.1	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	1	2	2	
P1.2	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	1	1	1	
P1.3	Servikal	3	3	3	3
	Sepertiga tengah	3	3	3	
	apikal	2	2	2	
P1.4	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	3	3	
	apikal	2	2	2	
P1.5	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	2	3	3	



P1.6	Servikal	3	3	3	3
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	3	3	3	

Kelompok P2

Tikus	Tempat	Pengamat			
		P1	P2	P3	
P2.1	Servikal	3	3	3	3
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	3	3	3	
P2.2	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	1	1	
	apikal	3	2	2	
P2.3	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	1	1	1	
P2.4	Servikal	1	1	1	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	2	2	2	
P2.5	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	2	2	2	
P2.6	Servikal	2	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	2	2	2	

Kelompok P3

Tikus	Tempat	Pengamat			
		P1	P2	P3	
P3.1	Servikal	2	2	2	1
	Sepertiga tengah	2	1	1	
	apikal	1	1	1	
P3.2	Servikal	1	2	2	2
	Sepertiga tengah	2	2	2	
	apikal	1	1	1	
P3.3	Servikal	1	1	1	1
	Sepertiga tengah	1	1	1	
	apikal	1	1	1	
P3.4	Servikal	1	1	1	1
	Sepertiga tengah	2	1	1	
	apikal	2	1	1	
P3.5	Servikal	2	2	2	1

	Sepertiga tengah	1	1	1	
	apikal	1	1	1	
P3.6	Servikal	2	1	1	1
	Sepertiga tengah	2	1	1	
	apikal	2	2	2	

Keterangan : Pengukuran lebar dan jarak serabut kolagen dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x.

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skor	24	2.1250	.74089	1.00	3.00
kelompok	24	2.5000	1.14208	1.00	4.00

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank
skor 1	6	18.92
2	6	14.17
3	6	12.58
4	6	4.33
Total	24	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	skor
Chi-Square	15.456
df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 1	6	8.00	48.00
2	6	5.00	30.00
Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	30.000
Z	-1.682
Asymp. Sig. (2-tailed)	.093
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.180 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 1	6	8.50	51.00
3	6	4.50	27.00
Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-2.211
Asymp. Sig. (2-tailed)	.027
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 1	6	9.42	56.50
4	6	3.58	21.50
Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	21.500
Z	-3.028
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 2	6	7.00	42.00
3	6	6.00	36.00
Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	15.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-.638
Asymp. Sig. (2-tailed)	.523
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.699 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 2	6	9.17	55.00
4	6	3.83	23.00
Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	skor
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-2.768
Asymp. Sig. (2-tailed)	.006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

**Ranks**

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skor 3	6	9.08	54.50
4	6	3.92	23.50
Total	12		

Test Statistics<sup>b</sup>

	skor
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-2.762
Asymp. Sig. (2-tailed)	.006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

LAMPIRAN F. Alat yang digunakan dalam Penelitian



Kandang perlakuan hewan coba



*Waterbath*



*Slide warmer*



*krotom*



*Stopwatch*

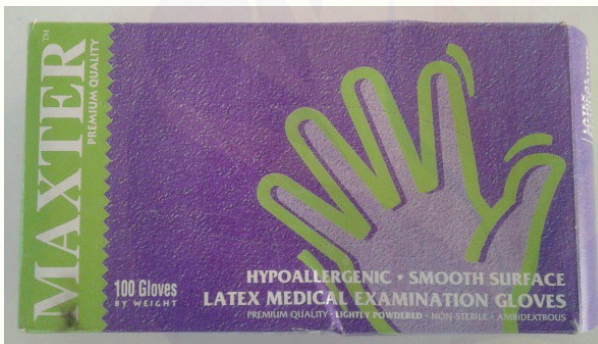




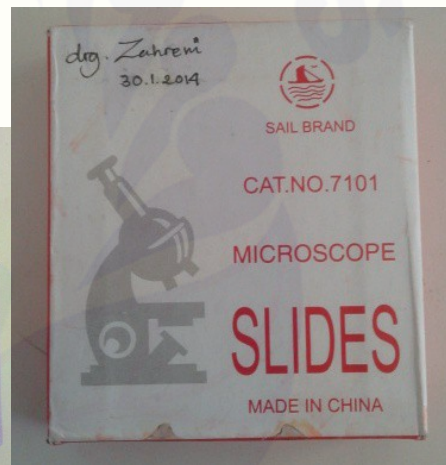
kulkas



timbangan



Sarung tangan  
mikroskop



slide

Lampiran G. Bahan yang digunakan dalam penelitian



Spiritus, Eter, Alkohol, Bouin's, Paraffin



Entelan, Object glass, Deck glass, Xylol



- a. Mallory 1 (*acid fuchsin* + aquades); b. Mallory 2 (*phosphomolibdic acid* + aquades);  
c. Mallory 3 (*aniline blue* + orange G + *oxalid acid* + aquades)



pakan tikus