



**DAMPAK PERBEDAAN LAMA WAKTU DISTRES KRONIS TERHADAP
JUMLAH FIBROBLAS DI *LIGAMENT PERIODONTAL SPACE* TIKUS
*SPRAGUE DAWLEY***

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

BIMBI VIRGAMANTYA

111610101047

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2015



**DAMPAK PERBEDAAN LAMA WAKTU DISTRES KRONIS TERHADAP JUMLAH
FIBROBLAS DI *LIGAMENT PERIODONTAL SPACE* PADA TIKUS *SPRAGUE
DAWLEY***

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

Bimbi Virgamantya
NIM 111610101047

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Moch. Ickman dan Ibunda Wigatiningsih tercinta.
2. Kakakku Wilman Arinanda, dan Adikku Ilham Kusuma Waskita yang telah memberi kasih sayang, motivasi dan do'a.
3. Guru-guru yang saya hormati, terimakasih atas ilmu dan bimbingannya.
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

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

Semua mimpi yang akan kita raih harusnya kita menggapainya dengan cara bekerja keras, pantang menyerah, dan selalu berinovasi dalam kehidupan sehari-hari, meskipun harus menerima banyak kegagalan dan kepahitan selama menjalaninya.**

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)*

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

**) Keichiro Honda. 2001. *The Greatness HONDA*

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bimbi Virgamantya

NIM : 111610101047

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Dampak Perbedaan Lama Waktu Distres Kronis Terhadap Jumlah Fibroblas Di *Ligament Periodontal Space* Pada Tikus *Sprague Dawley*” 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, 10 Maret 2015

Yang menyatakan,

Bimbi Virgamantya

NIM 111610101047

SKRIPSI

**DAMPAK PERBEDAAN LAMA WAKTU DISTRES KRONIS TERHADAP JUMLAH
FIBROBLAS DI *LIGAMENT PERIODONTAL SPACE* PADA TIKUS *SPRAGUE
DAWLEY***

Oleh

Bimbi Virgamantya

NIM 111610101047

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Suhartini, M. Biotech.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Izzata Barid, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Dampak Perbedaan Lama Waktu Distres Kronis Terhadap Jumlah Fibroblas Di *Ligament Periodontal Space* Pada Tikus *Sprague Dawley*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Selasa, 10 Maret 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP 196709011997021001

Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes
NIP 196903031997022001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

drg. Suhartini, M. Biotech.
NIP 197909262006042002

drg. Izzata Barid, M.Kes
NIP 196805171997022001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Dampak Perbedaan Lama Waktu Distres Kronis Terhadap Jumlah Fibroblas Di *Ligament Periodontal Space* Pada Tikus *Sprague Dawley*; Bimbi Virgamantya; 111610101047; 2014; 52 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Stres merupakan suatu fenomena yang biasa terjadi pada tiap manusia yang memberikan dampak secara fisik maupun psikologis. Distres adalah bentuk perilaku yang memiliki efek negatif pada kesehatan fisik dan psikis. Distres dapat dibedakan menjadi dua, yaitu distres akut dan kronis. Distres kronis adalah distres yang berlangsung lama dan terjadi secara terus menerus. Distres kronis dapat menyebabkan pengerusakan sel yang salah satunya adalah sel fibroblas. Sel fibroblas merupakan elemen selular yang banyak ditemukan pada jaringan ikat yang berproliferasi dan aktif mensintesis komponen matriks. Fibroblas berfungsi sebagai penghasil kolagen dan juga dapat membuat dentikel. Distres dapat mengakibatkan peningkatan *adenocorticotropic hormone* (ACTH) yang nantinya akan menstimulus korteks adrenal untuk memproduksi glukokortikoid. Distres kronis pada hari ke 7 akan mencapai puncaknya untuk memproduksi glukokortikoid, mulai terjadi penurunan pada hari ke 14, dan pada hari ke 28 terjadi peningkatan glukokortikoid. Glukokortikoid dalam jumlah berlebih akan menyebabkan penghambatan pembentukan fibroblas, yang akan berlanjut terjadinya kegoyangan gigi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan lama waktu dari dampak distres kronis terhadap jumlah fibroblas *ligament periodontal space* tikus *Sprague dawley*.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 16 ekor yang terbagi dalam 4 kelompok yaitu: kelompok Stres fisik hari ke 0 (SPF 0), Stres fisik 7 hari (SPF 1), Stres fisik 14

hari (SPF 2) dan Stres fisik 28 hari (SPF 4). Sampel dikorbankan sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing, pada SPF 0 pada hari ke 0, SPF 1 pada hari ketujuh, pada SPF 2 pada hari keempat belas, dan SPF 4 pada hari kedua puluh delapan dan dilanjutkan dengan pengambilan jaringan. Setelah didapatkan jaringan, selanjutnya dilakukan pengecatan *hematoxilin eosin* untuk menghitung jumlah sel fibroblas di *ligament periodontal space*.

Uji *One Way ANOVA* menunjukkan $p = 0,011$ ($p < 0,05$) yang berarti jumlah rata-rata sel fibroblas terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil uji *Least Significance Different (LSD) Test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan hari ke 0 (SPF 0) dengan SPF 1, SPF 0 dengan SPF 2, dan SPF 0 dengan SPF 4.

Pada hari ke 7 dibandingkan dengan hari ke 0 terjadi jumlah fibroblas secara signifikan ($p < 0,05$) yang diduga karena paparan distres kronis yang terjadi mengakibatkan terjadinya peningkatan hormon kortisol secara signifikan yang dapat menurunkan *Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β)* yang berlanjut pada penurunan jumlah fibroblas. Pada hari ke 14 dibandingkan dengan hari ke 0 kembali mengalami penurunan jumlah fibroblas secara signifikan ($p < 0,05$) karena jumlah kortisol tetap meningkat secara signifikan sehingga jumlah sel fibroblas akan menurun. Pada hari ke 28 terjadi penurunan jumlah fibroblas yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan hari ke 0 tetapi apabila dibandingkan dengan hari ke 14 mengalami peningkatan jumlah sel fibroblas tetapi tidak signifikan. Hal ini diduga pada hari ke 28 sekresi kortisol menurun sehingga penurunan TGF- β tidak berlanjut dan jumlah fibroblas berangsur meningkat.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian bahwa perbedaan lama waktu distres kronis terbukti mempengaruhi penurunan jumlah fibroblas di *ligament periodontal space* tikus *Sprague dawley* yang diakibatkan adanya peningkatan kortisol. Induksi distres selama 14 hari mengakibatkan penurunan jumlah fibroblas, akan tetapi pada induksi distres selama 28 hari jumlah fibroblas kembali meningkat.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Dampak Perbedaan Lama Waktu Distres Kronis Terhadap Jumlah Fibroblas *Ligament Periodontal Space* Pada Tikus *Sprague Dawley*”. 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. drg. Hj. Herniyati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian hingga selesainya penulisan ini;
2. drg. Amiyatun Naini, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan perhatian dan motivasi kepada saya;
3. drg. Suhartini, M. Biotech., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Izzata Barid, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberi bimbingan, saran, motivasi dan meluangkan waktu untuk membimbing penyusunan skripsi ini;
4. drg. Happy Harmono, M. Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberi masukan, saran dan waktu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. drg. Zahreni Hamzah, M.Kes., selaku ketua tim penelitian yang telah membimbing dan membantu atas penelitian yang dilakukan;
6. Ayahanda Moch. Ickman dan Ibunda Wigatiningsih yang memberikan kasih sayang tak terhingga, air mata dalam doa yang tiada henti untuk semua harapan dan masa depan putra-putrinya;

7. Kakakku Wilman Arinanda yang selalu memotivasiku dan menjadi tempat curhat, pendengar setia kisah hidupku serta adikku Ilham Kusuma Waskita tersayang;
8. Guru-guru dari TK sampai PT 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 (Mbak Wahyu dan Mas Iwan);
10. Teman seperjuangan Hayyu Rizky Nur Rahma, Erfan Ramadana Pratama, Choiril Faizol Alam, Redo Setiawan, Afif Surya, Maria Devita, Mohamad Basofi, Maharja Jathi, Khamda Rizki Dhamas, Dhani Yanuar Pratama, Cicik Khildar, Vananda Duanta, Eddy Yudha terima kasih atas kerja sama, canda tawa, bantuan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini;
11. Sahabat-sahabatku, dan lain-lainnya yang tidak bisa disebutkan semuanya. Semoga persahabatan kita abadi meski terpisah oleh ruang dan waktu;
12. Angkatan 2011, yang telah bersama-sama selama hampir 4 tahun ini. Terima kasih atas rasa kekeluargaan, solidaritas kalian dan semoga kita menjadi dokter gigi yang bermanfaat;
13. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
14. 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, 10 Maret 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Stres	3
2.1.1 Definisi	3
2.1.2 Stresor	4
2.1.3 Faktor Penyebab	4
2.1.4 Mekanisme Distres	5
2.1.5 Kortisol	6

2.1.6 Stresor Rasa Sakit.....	6
2.1.7 Lama Waktu Pemberian Distres	6
2.2 Jaringan Periodontal	7
2.2.1 Definisi Jaringan Periodontal	7
2.2.2 Ligamen Periodontal.....	7
2.2.3 <i>Ligament Periodontal Space</i>	8
2.2.4 Komponen Ligamen Periodontal.....	8
2.3 Fibroblas	9
2.3.1 Definisi	9
2.3.2 Fungsi Fibroblas	9
2.3.3 Struktur Sel Fibroblas.....	9
2.4 Peran Kortisol Dalam Menghambat Sel Fibroblas	11
2.5 Pengaruh Distres Kronis Karena Renjatan Listrik	11
2.6 Hipotesa	11
BAB 3. METODE PENELITIAN	12
3.1 Jenis, Waktu, dan Tempat Penelitian	12
3.1.1 Jenis Penelitian	12
3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Variabel Penelitian	12
3.2.1 Variabel Bebas	12
3.2.2 Variabel Terikat	12
3.2.3 Variabel Terkendali	12
3.3 Definisi Operasional Penelitian	13
3.3.1 Stresor Renjatan Listrik	13
3.3.2 Distres Kronis	13
3.3.3 Fibroblas	13
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	13
3.4.1 Populasi	13

3.4.2 Kriteria Sampel.....	13
3.4.3 Besar Sampel	14
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	14
3.5.1 Alat Penelitian	14
3.5.2 Bahan Penelitian	15
3.6 Prosedur Penelitian	15
3.6.1 Tahap Persiapan Hewan Coba	15
3.6.2 Tahap Pengelompokan Hewan Coba	16
3.6.3 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba	16
3.6.4 Tahap Preparasi Jaringan	17
3.6.5 Tahap Pembuatan Sediaan	17
3.6.5.1 Tahap Pemrosesan Jaringan	17
3.6.6 Tahap Pengecatan <i>Hematoxilin Eosilin (HE)</i>	20
3.6.7 Tahap Penghitungan Jumlah Fibroblas	21
3.7 Analisis Data	22
3.8 Alur Penelitian.....	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Analisis Data	26
4.3 Pembahasan	28
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil perhitungan jumlah fibroblas tikus <i>Sprague Dawley</i> jantan pada masing-masing kelompok	24
4.2 Hasil Uji Normalitas dengan menggunakan Uji <i>Shapiro-Wilk</i>	27
4.3 Hasil Uji Homogenitas <i>levene's</i> dan <i>One Way Anova</i> jumlah rata-rata fibroblas pada tikus <i>Sprague Dawley</i> yang mengalami distress kronis.	27
4.4 Hasil Analisa dengan Uji LSD.....	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Perbedaan sel fibroblas aktif dan diam	10
3.8 Alur penelitian	23
4.1 Diagram batang rata-rata jumlah fibroblas pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	25
4.2 Gambar hasil penelitian sel fibroblas	26

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penghitungan Besar Sampel	37
B. Data Hasil Perhitungan Jumlah Fibroblas	38
C. <i>Ethical Clearance</i>	39
D. Uji Normalitas dan Homogenitas	40
E. Uji Parametrik <i>One Way Anova</i> dan LSD	41
F. Foto Kegiatan Penelitian	42

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stres merupakan suatu fenomena yang biasa terjadi pada tiap manusia dalam kehidupan sehari-hari dan tidak dapat dihindari. Stres memberikan dampak pada individu baik secara fisik maupun psikis (Carlson, 2005). Menurut Hans Selye dalam Girdano (2005), stres terbagi menjadi dua tipe yaitu eustres dan distres. Eustres merupakan bentuk perilaku positif yang dapat merangsang seseorang untuk melakukan berbagai hal dengan lebih baik, sedangkan distress adalah bentuk perilaku yang memiliki efek negatif pada kesehatan fisik dan psikis. Stres fisik disebabkan oleh *exposure stressor* yang berbahaya bagi jaringan tubuh misalnya terpapar pada keadaan dingin atau panas, penurunan konsentrasi oksigen, infeksi, luka/*injuries*, latihan fisik yang berat dan lama, dan lain lain. Pada stres psikis dapat terjadi karena perubahan kehidupan, hubungan sosial, perasaan marah, takut, dan depresi (Hole, 1981).

Distres dapat dibedakan menjadi dua, yaitu distres akut dan kronis. Distres akut adalah keadaan distres yang hanya berlangsung sementara atau tidak menetap, sedangkan distres kronis adalah distres yang berlangsung lama dan terjadi secara terus menerus. Distres kronis dapat mengakibatkan perubahan metabolisme sel-sel tubuh yang mengarah pada pengrusakan sel, salah satu sel yang terdapat pada *ligament periodontal space* yang dicurigai terkena dampak dari perubahan metabolisme tersebut adalah sel fibroblas (Lumongga, 2008).

Sel fibroblas merupakan elemen selular yang banyak ditemukan pada jaringan ikat yang berproliferasi dan aktif mensintesis komponen matriks (Fawcett, 2002). Fibroblas berfungsi sebagai penghasil kolagen dan menggantikan odontoblas yang mati dengan cara membentuk *dentin reparative* (Grossman, 1995).

Pada kondisi distres kronis terjadi peningkatan *Adenocorticotropic hormone* (ACTH) yang akan menstimulus korteks adrenal untuk memproduksi glukokortikoid dalam jumlah yang banyak. Distres kronis pada hari ke 7 akan mencapai puncaknya untuk memproduksi glukokortikoid, mulai terjadi penurunan pada hari ke 14, dan pada hari ke 28 terjadi peningkatan glukokortikoid (Sumantri, 1997). Glukokortikoid dalam jumlah yang berlebih ini akan menyebabkan penurunan TGF β yang akan berpengaruh dalam penurunan proliferasi fibroblas (Prabakti, 2005). Penurunan jumlah fibroblas akan berlanjut pada terjadinya kegoyangan gigi (Anwar, 2005).

Stresor yang digunakan dalam penelitian eksperimental ini adalah stresor fisik yang berupa rasa sakit. Stresor yang dipilih adalah renjatan listrik pada telapak kaki dengan menggunakan alat “*electrical foot shock*”. Pada alat “*electrical foot shock*”, dialirkan arus sebesar 2-8 mA agar penjalaran listrik pada spesimen cepat, intensitas besaran dapat terukur dengan baik, dan tidak adanya efek samping setelah dilakukan renjatan listrik (Anshar, 2001).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah dampak perbedaan lama waktu distres kronis terhadap jumlah fibroblas di *ligament periodontal space* tikus *Sprague Dawley* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk menganalisa perbedaan lama waktu dampak distres kronis terhadap jumlah fibroblas di *ligament periodontal space* tikus *Sprague Dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang diharapkan adalah Dapat memberikan hasil gambaran perbedaan lama waktu dari pengaruh stresor renjatan listrik terhadap jumlah fibroblas pada *ligament periodontal space*. Dapat digunakan acuan penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan fibroblas.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi Stres

Stres adalah suatu keadaan yang bersifat internal, yang bisa disebabkan oleh tuntutan fisik (badan), atau lingkungan, dan situasi sosial, yang berpotensi merusak dan tidak terkontrol (Sriati, 2007). Menurut Selye (2005) Stress terbagi menjadi dua tipe yaitu eustres dan distres. Menurut Morgan dan King (1986), stres adalah keadaan internal yang dapat disebabkan oleh tuntutan fisik pada tubuh (kondisi penyakit, latihan, temperatur yang ekstrem, dan sejenisnya) atau dengan situasi lingkungan dan sosial yang dievaluasi sebagai berpotensi membahayakan, tidak terkendali.

Eustres, yaitu hasil dari respon terhadap stres yang bersifat sehat, positif, dan konstruktif (bersifat membangun). Hal tersebut termasuk kesejahteraan individu dan juga organisasi yang diasosiasikan dengan pertumbuhan, fleksibilitas, kemampuan adaptasi, dan tingkat performa yang tinggi. Ini adalah semua bentuk stres yang mendorong tubuh untuk beradaptasi dan meningkatkan kemampuan untuk beradaptasi. Ketika tubuh mampu menggunakan stres yang dialami untuk membantu melewati sebuah hambatan dan meningkatkan performa, stres tersebut bersifat positif, sehat, dan menantang (Walker, 2002).

Distres, yaitu hasil dari respon terhadap stres yang bersifat tidak sehat, negatif, dan destruktif (bersifat merusak). Hal tersebut termasuk konsekuensi individu terhadap penyakit sistemik dan tingkat ketidakhadiran (absenteeism) yang tinggi, yang diasosiasikan dengan keadaan sakit, penurunan, dan kematian. Distres adalah semua bentuk stres yang melebihi kemampuan untuk mengatasinya, membebani tubuh, dan menyebabkan masalah fisik atau psikologis.

Ketika seseorang mengalami distress, orang tersebut akan cenderung bereaksi secara berlebihan, bingung, dan tidak dapat melakukan aktifitas secara maksimal (Walker, 2002).

2.1.2 Stresor

Secara umum keadaan yang dapat menimbulkan stres disebut sebagai stresor. Tanpa adanya stresor atau kejadian yang menimbulkan stres, maka stres tidak akan terjadi. Menurut Greenberg (2004) stresor adalah sesuatu yang berpotensi menimbulkan reaksi stres. Menurut Gatchel, Baum & Krantz (1989) stressor adalah kejadian lingkungan yang menimbulkan stres sehingga memunculkan reaksi stres seperti ketakutan, kecemasan, dan kemarahan. Menurut Marin & Osborn (dalam Rice, 1999) stresor adalah sebuah stimulus yang terjadi dengan intensitas yang cukup sehingga menyebabkan stres. Dari definisi-definisi diatas, maka dapat disimpulkan stressor adalah sebuah stimulus yang timbul dari lingkungan yang dapat menyebabkan stres sehingga memunculkan reaksi seperti kemarahan, kecemasan dan ketakutan.

2.1.3 Faktor Penyebab Distres

Hampir semua jenis distress yang bersifat fisik maupun psikis akan menyebabkan peningkatan sekresi *Adenocorticotropic Hormone* (ACTH). Beberapa jenis distress yang meningkatkan pelepasan kortisol adalah sebagai berikut: (1) hampir semua jenis trauma, (2) infeksi, (3) kepanasan atau kedinginan yang hebat, (4) penyuntikan norepineprin dan obat-obat simpatomimetik lainnya, (5) pembedahan, (6) penyuntikan bahan bersifat nekrolisis di bawah kulit, (7) mengekang seekor binatang sehingga tidak dapat bergerak, (8) hampir setiap penyakit menyebabkan kematian (Guyton, 1997).

Rangsangan sakit yang disebabkan oleh jenis stresor fisik atau kerusakan jaringan pertama-tama dihantarkan ke atas melalui batang otak dan akhirnya ke eminensia mediana hipotalamus. Di sini, *Corticotropic Releasing Hormone* (CRH)

disekresikan ke dalam sistem portal hipofisis. Dalam beberapa menit, seluruh rangkaian pengaturan mengarah kepada sejumlah besar kortisol di dalam darah (Guyton, 2007).

Stresor mental dapat menyebabkan peningkatan secara cepat sekresi ACTH yang sebanding. Keadaan ini dianggap sebagai akibat dari naiknya aktivitas dari sistem limbik, khususnya dalam regio amigdala dan hipokampus, yang kemudian menyalurkan sinyal ke bagian posterior medial hipotalamus (Guyton, 2007).

2.1.4 Mekanisme Distres

Mekanisme distress dapat menyebabkan keadaan yang patologis pada tubuh. Secara fisiologis, tubuh dapat menunjukkan 3 tahap (fase) ketika menghadapi stress yaitu *alarm stage*, *resistance stage*, dan *exhaustion stage*. Reaksi ini menurut Selye (1982) disebut sebagai GAS Theory (*General Adaptation Syndrome*).

Tahap pertama, yaitu *alarm stage*. Pada tahapan ini terjadi ketika individu pertama kali menerima stresor sehingga akan mengaktifkan sistem saraf autonom yang akan menstimuli korteks adrenal untuk mensekresi kortisol. Seluruh efek tersebut menyebabkan orang tersebut dapat melaksanakan aktivitas fisik yang jauh lebih besar daripada bila tidak ada efek di atas.

Tahap kedua, yaitu *resistance stage*, terjadi setelah alarm stage. Selama fase ini tubuh akan memberikan respon pertahanan untuk melawan distress tetapi intensitas distress terus menerus meningkat sehingga tubuh akan mengalami fase maladaptasi dan berlanjut pada timbulnya penyakit.

Tahap ketiga, yaitu *exhaustion stage*. Tahap ini terjadi ketika distress masih berlangsung dalam kurun waktu yang lama sehingga tubuh tidak mampu untuk melawan distress yang nantinya akan mempengaruhi sistem organ, atau salah satu organ menjadi tidak berfungsi yang menyebabkan terjadinya distress yang kronis. Distres kronis ini dapat mengganggu fungsi otak, saraf otonom, sistem endokrin, dan sistem imun yang kita sebut sebagai penyakit psikosomatis.

2.1.5 Kortisol

Kortisol adalah glukokortikoid fisiologis utama dalam tubuh manusia. Pembentukan dan pengeluaran hormon kortisol diatur oleh sinyal saraf dan endokrin. Kortisol dikeluarkan dari korteks adrenal sebagai respon terhadap ACTH. Konsentrasi kortisol beredar di dalam darah yang akan mengenai sel penghasil CRH di hipotalamus dan sel penghasil ACTH di hipofisis anterior bekerja sebagai sinyal umpan balik negatif yang memiliki pengaruh regulatorik terhadap pengeluaran CRH dan ACTH. Kadar kortisol yang tinggi dalam darah menekan sekresi CRH dan ACTH, sedangkan kadar kortisol yang rendah dalam darah merangsang sekresi. Namun pada stres berat sinyal umpan balik negatif terhadap terhadap sekresi ACTH oleh kadar kortisol yang tinggi dalam darah akan berbalik yang digantikan oleh aktivitas bagian aksis yang lebih tinggi yang diinduksi oleh stres berat tersebut (Murray *et al*, 2006).

2.1.6 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 rangsangan pada organ-organ ujung saraf yang mempersepsi rasa sakit yaitu serabut non-medula bebas. Keparahan rasa sakit yang dialami individu dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah jumlah serabut saraf yang diaktifkan dan bukan karena perubahan impuls yang diterima serabut saraf. Respon yang bervariasi terhadap stimulus sakit yang identik bukan disebabkan oleh perbedaan 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 talamus posterior (Howe, 1992).

Renjatan listrik adalah suatu nyeri pada saraf sensoris yang diakibatkan aliran listrik yang mengalir secara tiba-tiba melalui tubuh. Bahaya renjatan listrik sangat besar, tubuh akan mengalami *ventricular fibrillation*, kemudian diikuti dengan

kematian, oleh karena itu perlu diketahui bahwa perubahan-perubahan yang timbul akibat renjatan listrik sebagai metode pengamatan ketika stres berlangsung (Gabriel, 1996).

2.1.7 Lama Waktu Pemberian Distres

Lamanya waktu saat distres akan mempengaruhi jumlah sekresi dari kortisol. Pemberian lamanya waktu distres berpedoman pada pernyataan dari Sumantri (1997), bahwa pada hari ke 4 terjadi peningkatan glukokortikoid dan mencapai puncaknya pada hari ke 7, mulai terjadi penurunan pada hari ke 14, dan pada hari ke 28 terjadi peningkatan glukokortikoid.

2.2 Jaringan Periodontal

2.2.1 Definisi Jaringan Periodontal

Jaringan periodontal adalah jaringan yang terdapat di sekitar gigi tempat gigi tertanam dan yang membentuk lengkungan rahang. Jaringan periodontal merupakan sistem fungsional jaringan yang mengelilingi gigi dan melekatkan pada tulang rahang, sehingga jaringan tersebut dapat mendukung gigi sehingga tidak terlepas dari soketnya (Junqueira, 2007). Jaringan periodontal terdiri dari 4 yaitu: gingiva, tulang alveolar, ligamen periodontal dan sementum. Jaringan periodontal mempunyai kemampuan beregenerasi karena mempunyai sistem sirkulasi yang adekuat. Regenerasi adalah pertumbuhan serta pembelahan sel-sel baru dan substansi interseluler yang membentuk jaringan baru. Regenerasi terdiri dari fibroplasia, proliferasi endotel, deposisi dan substansi dasar intersisial dan kolagen, epitelisasi dan pematangan jaringan ikat.

2.2.2 Ligamen Periodontal

Ligamen periodontal adalah suatu ikatan yang biasanya menghubungkan dua buah tulang. Akar gigi berhubungan dengan soketnya pada tulang alveolar melalui struktur jaringan ikat yang dapat dianggap sebagai ligamen. Ligamen periodontal

tidak hanya menghubungkan gigi ke tulang rahang tetapi juga menopang gigi pada soketnya dan menyerap beban yang mengenai gigi. Beban selama mastikasi, menelan dan berbicara sangat besar variasinya, juga frekuensi, durasi dan arahnya. Struktur ligamen biasanya menyerap beban tersebut secara efektif dan meneruskannya ke tulang pendukung (Manson dan Eley, 1993). Menurut dorland (2000) Jaringan periodontal adalah jaringan yang mengelilingi gigi dan berfungsi sebagai penyangga gigi, terdiri dari gingiva, sementum, ligamen periodontal dan tulang alveolar. Sebelum memahami kerusakan jaringan periodontal, sebaiknya dimulai dengan gingiva yang sehat dan tulang pendukung yang normal. Gingiva yang sehat dapat menyesuaikan diri dengan keadaan gigi.

2.2.3 *Ligament Periodontal Space*

Ligament Periodontal Space atau bisa juga disebut dengan ruang ligamen periodontal bervariasi menurut usia, lokasi gigi, dan besarnya tekanan yang diberikan pada gigi tersebut. Sisi mesial lebih tipis daripada sisi distal, karena adanya pergeseran mesial fisiologis. Gigi yang tidak digunakan mempunyai ligamen periodontal yang tipis dan akar serabut kolagen hilang. Gigi yang digunakan secara normal mempunyai ligamen periodontal yang lebih tebal dan konfigurasi serabut prinsipal yang normal. Pada oklusi fungsional, ruang ligamen periodonsium besarnya sekitar 0,25 mm, sedangkan bila tekanan yang diterima lebih besar dari keadaan normal maka ruang ligamen periodontal menjadi lebih lebar (Fawcet, 2002.)

2.2.4 Komponen Ligamen Periodontal

Ligamentum periodontal terdiri atas komponen selular dan interselular. Komponen selular terdiri atas sel jaringan ikat, sel-sel epitelial, sel-sel sistem imunitas, dan sel-sel yang berkaitan dengan elemen neurovaskular. Sel-sel jaringan ikat terdiri dari fibroblas, sementoblas, dan osteoblas, sedangkan sel-sel imunitas terdiri dari neutrofil, limfosit, makrofag, sel Mast, dan eusinofil. Komponen interselular ligamentum periodontal tersusun atas jaringan fibrous dan substansi

dasar. Jaringan fibrous terdiri dari serat kolagen, terutama kolagen tipe I dan III (Carlson, 2005).

2.3 Fibroblas

2.3.1 Definisi

Fibroblas merupakan sel-sel jaringan ikat tetap yang jumlahnya paling banyak dan mudah dikenali pada tiap bentuk jaringan ikat. Ciri-cirinya inti berbentuk lonjong yang mengandung sedikit kromatin, inti mengecil dan runcing, sitoplasma cerah dan homogen dan membran plasma tidak jelas (Nanci dan Bosshard, 2000). Menurut Adnan (2010), fibroblas adalah sel yang paling sering ditemukan dan paling penting dalam jaringan ikat.

2.3.2 Fungsi Fibroblas

Fibroblas berfungsi untuk mensintesis matriks ekstraseluler seperti serabut kolagen, serabut elastis dan zat-zat amorf. Selain itu ia berperan mengikat matriks ekstraseluler untuk membentuk jaringan dan mempercepat penyembuhan luka (Adnan, 2010). Menurut Grossman (1995), fungsi fibroblas adalah pembuatan substansi dasar dan serabut kolagen, yang merupakan matriks pulpa. Selain itu, fibroblas juga berperan dalam degradasi kolagen dan deposisi jaringan yang mengapur, dapat membuat dentikel dan dapat berkembang menggantikan odontoblas yang mati dengan cara membentuk dentin reparatif. Fungsi fibroblast yang lainnya adalah berdiferensiasi untuk mensintesis dan mensekresikan matriks ekstraseluler. Sintesis dan sekresi fibroblas mencakup kolagen, fibronektin, glikoprotein dan proteoglikan. Fibroblas membantu mensintesis ekstraseluler. Fibroblas memiliki banyak mikrofilamen aktin serta mikrotubul.

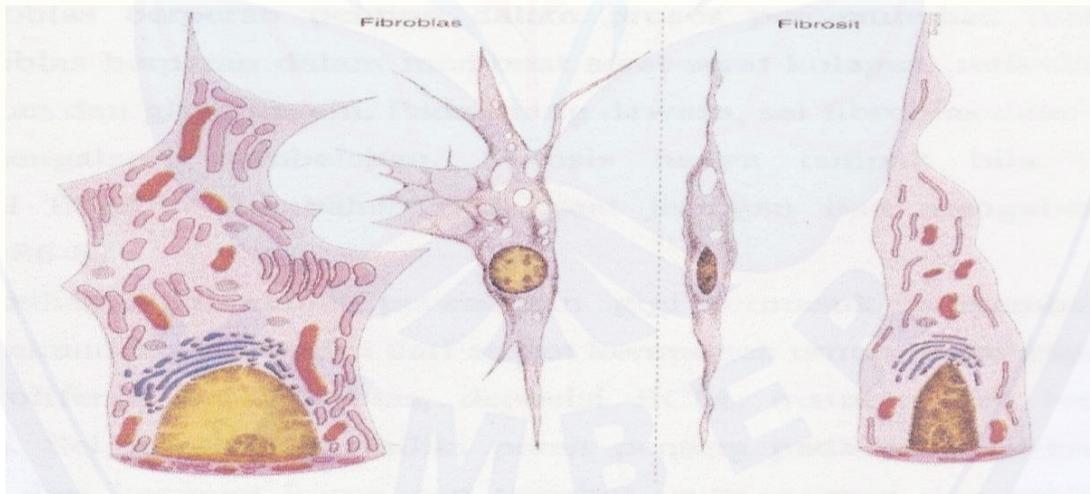
2.3.3 Struktur Sel Fibroblas

Menurut Dorland (2002), sel fibroblas merupakan sel pipih memanjang dengan tonjolan-tonjolan sitoplasmik disetiap ujungnya, memiliki inti yang vesikular, oval, pipih. Sel fibroblas memiliki dua jenis yaitu fibroblas muda dan fibroblas

dewasa. Sel dengan aktivitas sintetik yang besar secara morfologi berbeda dengan sel fibroblas tenang yang tersebar dalam matriks yang telah dibuatnya (Mescher, 2010).

Sel fibroblas muda memiliki banyak sitoplasma yang bercabang-cabang tidak teratur. Intinya lonjong, besar dan pucat dengan kromatin halus dan anak inti yang jelas. Sel fibroblas yang dewasa atau biasa yang disebut dengan sel fibrosit, selnya lebih kecil dari pada sel fibroblas yang aktif. Sel fibrosit cenderung berbentuk gelondong dengan lebih sedikit cabang-cabang dari pada sel fibroblas. Sel tersebut memiliki inti yang panjang, lebih gelap, lebih kecil dan sitoplasmanya bersifat asidofilik serta mengandung sedikit retikulum endoplasma kasar. Bila cukup dirangsang, sel fibrosit bisa berubah menjadi sel fibroblas dan aktivitas sintetiknya diaktifkan kembali (Mescher, 2010).

Menurut Fawcett (2002), sel fibroblas tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak pada sediaan sebagai sel fusiform dengan ujung-ujung meruncing. Dalam situasi lain, sel-sel mungkin terlihat sebagai sel-sel stelata gepeng dengan beberapa cabang langsing. Inti panjangnya selalu jelas, namun garis bentuk selnya sukar dilihat.



(a) Sel fibroblas aktif

(b) Sel fibroblas diam

Gambar 2.1 Perbedaan sel fibroblas aktif dan diam (Sumber: Junquera, 2007)

2.4 Peran Kortisol Dalam Menghambat Sel Fibroblas

Kortisol merupakan glukokortikoid fisiologis utama dalam tubuh manusia yang berfungsi untuk mempercepat pengedaran asam amino dan lemak yang berasal dari hati sampai ke seluruh sel yang terdapat pada tubuh. Saat kondisi distres kronis sekresi kortisol akan meningkat, sehingga hal ini akan mengakibatkan paparan kortisol terhadap sel-sel tubuh termasuk sel fibroblas juga akan meningkat. Kortisol yang meningkat ini akan mensupresi makrofag, sehingga aktivitas makrofag yang dipengaruhi IFN γ lebih menurun lagi. Penurunan aktivitas makrofag akan berakibat pada sitokin yang dilepaskan makrofag seperti TNF α , TGF β , IL-6, IL-8, dan IL-1 aktivitasnya juga akan ikut menurun. Padahal TGF β memiliki peran menstimulasi sel fibroblas, sehingga apabila TGF β menurun, maka jumlah fibroblas akan ikut menurun dan nantinya akan menyebabkan kegoyangan gigi (Prabakti, 2005).

2.5 Pengaruh Distress Karena Renjatan Listrik Terhadap Sel Fibroblas

Glukokortikoid dalam jumlah yang berlebihan menghambat fungsi fibroblas. Terhambatnya fungsi fibroblas yang disebabkan karena berlebihnya sekresi hormon kortisol akan menyebabkan yang nantinya akan mengarah pada kehilangan jaringan kolagen dan jaringan ikat. Kehilangan jaringan kolagen akan mempengaruhi perlekatan gigi pada soketnya sehingga akan menyebabkan kegoyangan pada gigi.

2.6 Hipotesis

Lamanya waktu pemberian distres kronis yang disebabkan oleh stresor rasa sakit akibat renjatan listrik dapat mempengaruhi jumlah sel fibroblas yang mengakibatkan menurunnya jumlah sel fibroblas di *ligament periodontal space* tikus *Sprague Dawley*.



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis, Waktu dan Tempat Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yaitu melakukan pengukuran setelah perlakuan kemudian hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2013-Maret 2014

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah distres kronis

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah jumlah fibroblas

3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali yang digunakan pada penelitian ini antarlain:

- a) Cara pemeliharaan
- b) Jenis makanan dan minuman tikus

3.3 Definisi Operasional Penelitian

3.3.1 Stresor Renjatan Listrik

Stresor yang diberikan pada sampel menggunakan suatu kandang yang beralaskan lempeng besi dengan dialiri arus listrik. Alat ini diadaptasi dari “*electrical foot shock*”.

3.3.2 Distres Kronis

Distres kronis adalah keadaan hewan coba yang telah diberikan stresor menggunakan alat *electrical foot shock* selama 30 menit setiap hari sesuai dengan hari yang telah ditentukan.

3.3.3 Fibroblas

Fibroblas merupakan sel pipih memanjang dengan tonjolan-tonjolan sitoplasmik disetiap ujungnya, memiliki inti yang vesikular, oval, pipih.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah populasi tikus *Sprague Dawley* berkelamin jantan.

3.4.2 Kriteria Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley* dengan kriteria sampel sebagai berikut :

1. Kondisi fisik sehat dan tidak mengalami kelainan fisik
2. Umur 2-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram
3. Pemberian pakan yang seragam

3.4.3 Besar Sampel

Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005) :

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di terima (σ) sama besar dengan (d) maka :

$$\sigma^2 =$$

$$n \geq \frac{Z^2 + \sigma^2}{d^2} \quad n \geq Z^2$$

$$n \geq (1,96^2)$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

- n : besar sample tiap kelompok
 Z : nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$
 σ : standar deviasi sampel
 d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 16 ekor tikus sebagai sampel, yang terbagi kedalam 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan digital untuk meninmbang tikus
- c. *Electric foot shock* (Sumintarti, 1997 dalam Asnar, 2001)
- d. *Blade scalpel*
- e. Gunting bedah
- f. *Stopwatch* (diamond, cina)

- g. *Disposable syringe* (terumo, japan)
- h. Pinset
- i. Tabung untuk inhalasi

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Makanan standar (PP3 dan BR2, perbandingan 3:1. Komposisi masing-masing jenis pada lampiran F3) dan minuman tikus
- b. Larutan eter
- c. Gigi molar 1-molar 3 tikus *Sprague Dawley*
- d. Aquades
- e. Buffer Formalin 10%
- f. EDTA 15%
- g. Parafin
- h. Alkohol
- i. Larutan PBS
- j. Alat shaker
- k. Gabus
- l. Jarum pentul
- m. Kasa
- n. *Hand scoon* (latex)
- o. Masker

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu agar pada saat perlakuan tidak terjadi stres tambahan dan diberi makan standar tikus serta disediakan air minum setiap hari secara *adlibitum* (sesukanya), setelah itu

ditimbang kemudian hewan coba dikelompokkan secara acak dengan jumlah tikus per kelompok sesuai besar sampel yang dibutuhkan.

3.6.2 Tahap Pengelompokan Hewan Coba

Hewan coba tikus *Sprague Dawley* sebanyak 16 ekor dibagi menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor:

- a. SPF 0 : Kelompok yang dikorbankan pada hari ke 0
- b. SPF 1 : Kelompok yang diberikan perlakuan renjatan listrik selama 7 hari.
- c. SPF 2 : Kelompok yang diberikan perlakuan renjatan listrik selama 14 hari
- d. SPF 4 : Kelompok yang diberikan perlakuan renjatan listrik selama 28 hari.

3.6.3 Tahap perlakuan pada hewan coba

Jumlah pemberian 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 Lv *et al* (2012).

Sampel dikorbankan pada hari ke 0, 7, 14, dan 28. Pengambilan hari ke 0 karena pada hari ke 0 diduga kadar kortisol masih normal. Pengambilan hari ke 7, 14, dan 28 berpedoman pada pernyataan dari Sumantri (1997), bahwa pada hari ke-4 terjadi peningkatan glukokortikoid dan mencapai puncaknya pada hari ke-7, mulai terjadi penurunan pada hari ke 14 dan pada hari ke-28 terjadi peningkatan glukokortikoid.

Pada masing-masing kelompok perlakuan, yaitu SPF 1, SPF 2, dan SPF 4 diberi renjatan listrik selama satu kali/hari dengan durasi waktu 30 menit. Untuk SPF 1, setelah diberi perlakuan renjatan listrik selama 7 hari, kelompok ini dikorbankan pada hari ke 7 setelah sebelumnya diberi renjatan listrik. Pengorbanan dilakukan pada pagi hari antara pukul 07.00-10.00 WIB dengan cara inhalasi menggunakan eter klorid yaitu dengan cara tikus dimasukkan ke dalam suatu tabung yang didalamnya terdapat kapas yang telah diberi eter klorid, kemudian tabung ditutup, ditunggu hingga tikus lemas, setelah itu tikus diambil, kemudian diletakkan di atas papan

gabus untuk dikorbankan. Bagian tikus yang diambil adalah rahang kanan 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 SPF 2 dan SPF 4, tahapan sama seperti SPF 1, hanya saja untuk SPF 2, hewan coba dikorbankan pada hari ke 14, dan untuk SPF 4 hewan coba dikorban pada hari ke 28. Pada kelompok SPF 0 tidak dilakukan pemberian renjatan listrik dan dikorbankan pada hari ke 0 pada saat pagi hari dengan tahapan pengorbanan sama dengan kelompok perlakuan.

3.6.4 Tahap Preparasi Jaringan

Setelah rahang terambil, kemudian rahang dimasukkan kedalam larutan fiksasi buffer formalin 10% dengan durasi waktu minimal 24 jam, tujuan dilakukan fiksasi jaringan ini antara lain:

- a. Mencegah terjadinya proses autolisis
- b. Mempertahankan morfologi sel seperti semula
- c. Mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri (Sudiana, 1993).

3.6.5 Tahap Pembuatan Sediaan

3.6.5.1 Tahap Pemrosesan Jaringan

a. Dekalsifikasi

Setelah jaringan difiksasi selama 24 jam dalam larutan buffer formalin, selanjutnya dilakukan tahap dekalsifikasi jaringan menggunakan larutan EDTA (*disodium ethylenediaminetetra-acetate*) 10%, caranya jaringan diambil dari larutan fiksasi kemudian dicuci dengan menggunakan PBS, setelah itu jaringan dimasukkan dalam larutan dekalsifikasi yaitu EDTA 10% sampai jaringan lunak yang dapat dilihat dengan cara ditusuk menggunakan jarum sampai dapat menembus jaringan dan mudah dipotong. Rendaman larutan EDTA 10% diganti setiap 4 hari sekali (Kiernan dalam *Histological and Histochemical Methods*, 1981)

b. Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan setelah proses dekalsifikasi selesai. Dehidrasi jaringan menggunakan konsentrasi alkohol rendah ke tinggi (bertingkat).

Tahapan dehidrasi :

1. Alkohol 70% : 15 menit
2. Alkohol 80% : 1 jam
3. Alkohol 95% : 2 jam
4. Alkohol 100% : 1 jam
5. Alkohol 100% : 1 jam
6. Alkohol 100% : 1 jam (Sudiana, 1993).

c. *Clearing* (proses penjernihan)

Proses *clearing* menggunakan Xylol. Tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Xylol : 1 jam
2. Xylol : 2 jam
3. Xylol : 2 jam (Sudiana, 1993).

d. Impregnasi

Impregnasi merupakan suatu proses infiltrasi bahan embeding dalam jaringan pada suhu 56°-60°C, caranya jaringan dibungkus tissue basket yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel, kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding*, yaitu parafin dengan titik didih 56°-60°C. Tujuan dilakukan impregnasi ini adalah untuk pengenalan jaringan terhadap parafin.

Tahap impregnasi:

1. Paraffin (56°-58°C) : 2 jam
2. Paraffin (56°-58°C) : 2 jam
3. Paraffin (56°-58°C) : 2 jam (Sudiana, 1993).

e. *Embedding*

Embedding merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*, yaitu parafin dengan titik didih (56°-60°C).

Tahap *embedding*:

1. Persiapkan alat cetak blok parafin, kemudian letakkan alat cetak di tempat yang permukaannya rata.
2. Tuangkan paraffin cair dengan titik didih 56°-60°C ke dalam alat cetak blok, Kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi ke dalamnya. Tidak lupa alat cetak diberi label agar jaringan mudah diidentifikasi, tunggu beberapa menit sampai parafin beku.
3. Setelah beku, paraffin dilepas dari alat cetak dan dilakukan pemotongan (Sudiana, 1993).

f. Pemotongan Jaringan

a. Persiapan pada tahap pemotongan jaringan :

- 1). Olesi obyek glass dengan polilysin
- 2). Tempelkan blok paraffin yang telah dipotong pada blok holder mikrotom dengan bantuan pemanasan (Sudiana, 1993).

b. Proses pemotongan jaringan

Pemotongan jaringan menggunakan alat yang disebut dengan mikrotom yang sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa yang telah dibasahi dengan xyol. Pisau mikrotom diatur dengan ketebalan potongan 5 µm. Pemotongan jaringan dilakukan dengan arah potong secara transversal, potongan jaringan yang diperlukan adalah potongan jaringan yang terdapat bentukan mahkota dan akar yang utuh serta tidak ada bagian akar yang hilang atau tidak terlihat pada gigi molar 1, molar 2, dan molar 3. Jaringan yang telah memenuhi kriteria tersebut, diambil dengan kuas, kemudian diletakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur 56°-58°C hingga potongan jaringan mekar. Potongan yang telah mekar diambil dengan *object*

glass yang telah diolesi dengan *polylisin*, kemudian dikeringan di atas *hot plate* dengan suhu sekitar 30°-35°C, minimal selama 12 jam (Sudiana, 1993).

3.6.6 Tahap Pengecatan *Hematoxilin Eosin* (HE)

Tahap pengecatan menggunakan HE menurut Sudiana (1993) sebagai berikut:

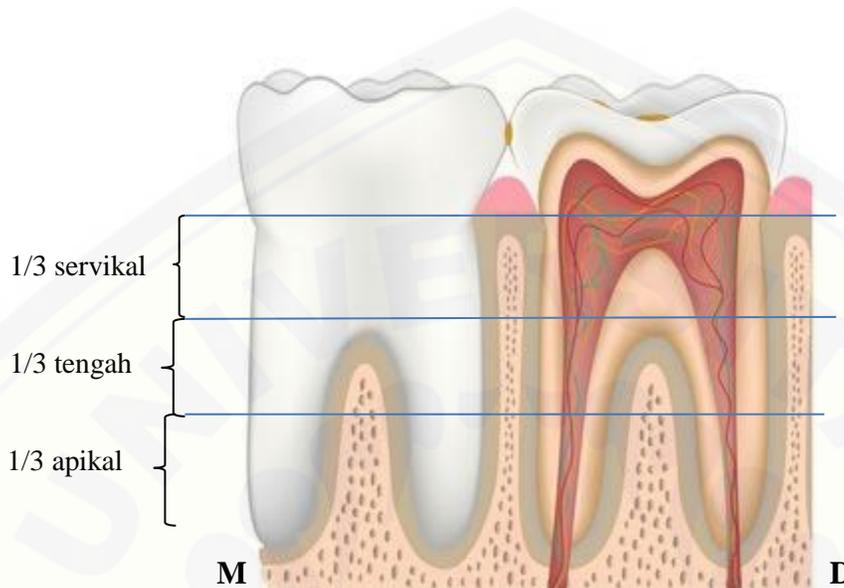
1. Xilol : 3 menit
2. Xilol : 3 menit
3. Xilol : 3 menit
4. Alkohol absolut : 3 menit
5. Alkohol absolut : 3 menit
6. Alkohol 95% : 3 menit
7. Alkohol 95% : 3 menit
8. Rendam air : 10 menit
9. Hematoxilin Mayer's : 1 menit
10. Bilas air mengalir : 20 menit
11. Eosin : 9 menit
12. Alkohol 95% : 3 menit
13. Alkohol 95% : 3 menit
14. Alkohol absolut : 3 menit
15. Alkohol absolut : 3 menit
16. Xilol : 3 menit
17. Xilol : 3 menit
18. Xilol : 3 menit

Fungsi xilol adalah untuk deparafinisasi, yaitu menghilangkan parafin yang terdapat pada jaringan, kemudian dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol absolut dan alkohol 95%, tujuannya memasukkan air ke dalam jaringan. Air akan masuk pada rongga-rongga jaringan yang kosong, setelah itu jaringan direndam di dalam air dengan tujuan untuk menghilangkan kelebihan semua zat warna, dilanjutkan dengan merendam jaringan kedalam larutan *Haematoxilin Mayer's* selama 1 menit. Sediaan

diwarnai untuk meningkatkan kontras alami dan untuk memperjelas berbagai unsur sel antara lain mewarnai inti dan sitoplasma jaringan, setelah itu bilas kembali jaringan dalam air mengalir selama 20 menit kemudian jaringan direndam dalam eosin selama 9 menit dengan tujuan memberi warna merah pada sitoplasma sel. Jaringan dicelupkan kedalam alkohol dengan konsentrasi yang meningkat antara lain alkohol 95% selama 3 menit kemudian dilanjutkan pada alkohol absolut selama 3 menit, proses ini dinamakan proses dehidrasi, tujuannya adalah untuk menghilangkan air yang ada di jaringan, dilanjutkan jaringan direndam dalam xilol selama 3 menit. Setelah proses dehidrasi selesai maka dilakukan proses mounting, yaitu dengan meneteskan *emmersen oil xylol tissue lenissa* pada jaringan, tujuannya untuk mengawetkan jaringan yang telah diwarnai, kemudian ditutup dengan *deck glass* dan dibiarkan mengering.

3.6.7 Tahap Penghitungan Jumlah Fibroblas

Sel fibroblas yang dihitung adalah sel fibroblas muda yang memiliki banyak prosesus sitoplasmik tidak teratur, nukleus bulat telur, besar dan berwarna muda, dan sitoplasma penuh dengan retikulum sitoplasmik granuler serta aparatus golgi berkembang dengan baik. Seluruh pengamatan sediaan histologis dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Perhitungan jumlah fibroblas dengan cara melihat 3 lapang pandang (1/3 servikal, 1/3 tengah, dan 1/3 apikal). Setiap preparat masing-masing diamati oleh 3 orang pengamat dan dihitung jumlah fibroblas pada *ligament periodontal space* sesuai dengan lapang pandang yang telah ditentukan, kemudian hasil ketiga lapang pandang setiap pengamat dijumlahkan, setelah itu dilakukan penjumlahan hasil jumlah fibroblas dari seluruh pengamat kemudian dirata-rata, sehingga didapatkan data jumlah fibroblas yang valid.



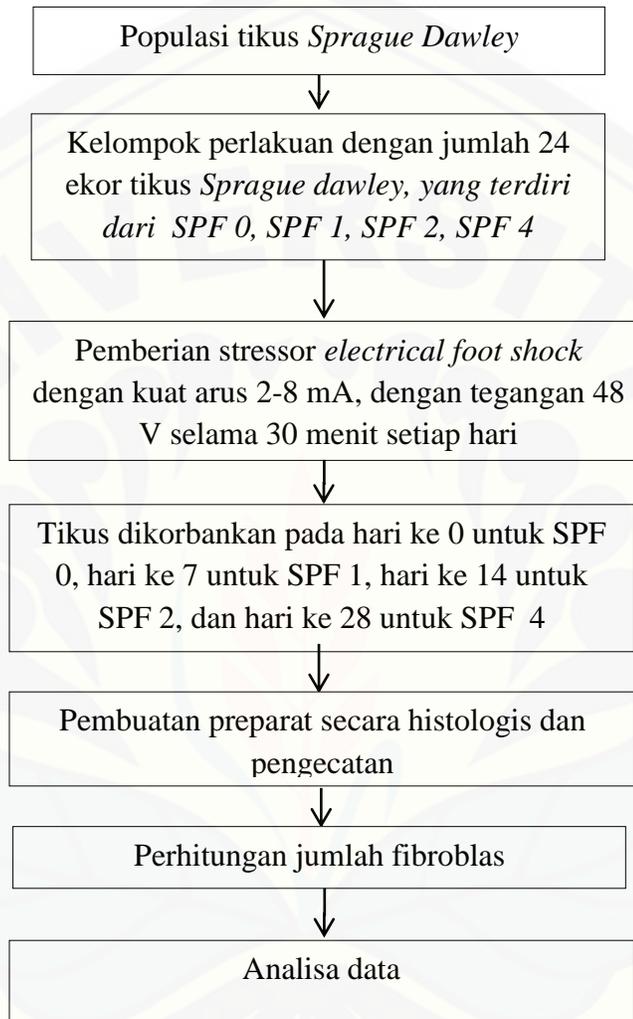
Gambar 3.1 Skema daerah pengamatan. Daerah pengamat terletak di sepanjang akar. Panjang akar dibagi menjadi 3 sama panjang yaitu 1/3 servikal, 1/3 tengah, 1/3 apikal.
Keterangan : M: Mesial, D: Distal

3.7 Analisa Data

Data jumlah sel fibroblas yang didapat, mula-mula dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan dilanjutkan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's*, yang selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA (Analysis of Variance) test* untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah fibroblas antara kelompok kontrol dengan rata-rata jumlah fibroblas kelompok perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila didapatkan hasil maka dilakukan uji lanjutan menggunakan *LSD (Least Significance Different) test* untuk melihat kelompok perlakuan mana yang berbeda.

3.8 Alur Penelitian

Alur penelitian ini digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3.2 Kerangka alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian didapatkan jumlah fibroblas pada kelompok SPF 0 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya (SPF 1, SPF 2, SPF 4). Hasil rata-rata jumlah fibroblas pada penelitian ditunjukkan dalam tabel berikut.

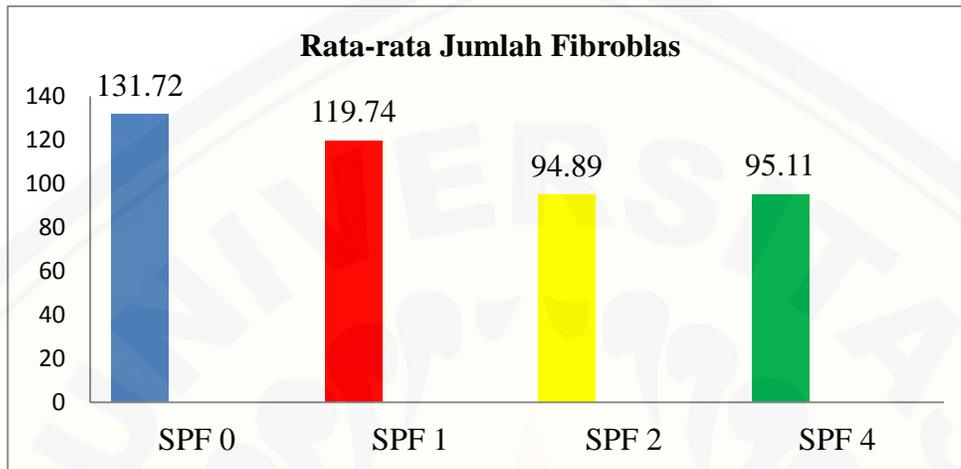
Tabel 4.1 Hasil perhitungan jumlah fibroblas tikus *Sprague Dawley* jantan pada masing-masing kelompok

Kelompok	Rata-rata	Standar deviasi
SPF 0	131,72	22,85
SPF 1	119,74	9,26
SPF 2	94,89	10,88
SPF 4	95,11	9,26

Keterangan: SPF 0= Stres fisik hari ke 0, SPF 1= Stres fisik hari ke 7, SPF 2= Stres fisik hari ke 14, SPF= 4 Stres fisik hari ke 28

Pada tabel data di atas, rata-rata jumlah fibroblas pada kelompok SPF 0 memiliki jumlah rata-rata lebih tinggi (131,72) dari kelompok lainnya SPF 1 (119,74), SPF 2 (94,89), SPF 4 (95,11). Pada kelompok SPF 1 dan SPF 2 didapatkan hasil rata-rata jumlah fibroblas terus mengalami penurunan mulai pada awal pengamatan yaitu pada hari ketujuh hingga pada pada hari keempat belas tetapi meningkat kembali pada hari kedua puluh delapan (SPF 4).

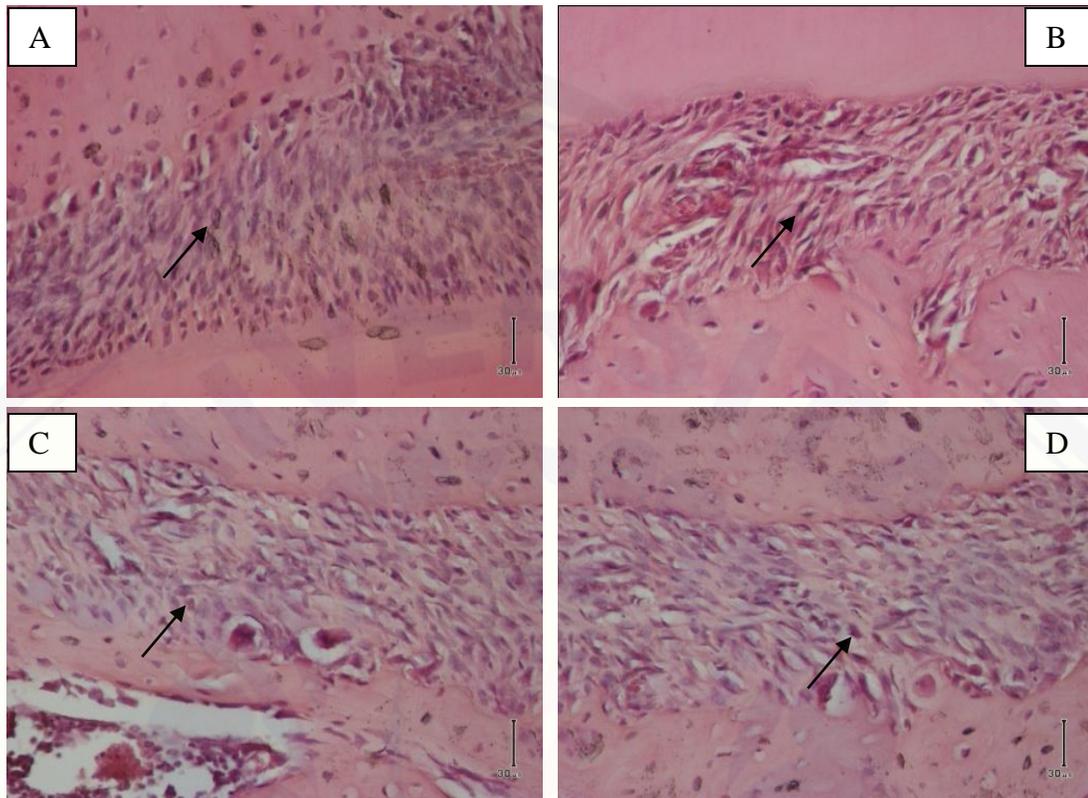
Perbandingan rata-rata jumlah fibroblas tikus *Sprague Dawley* dari tiap-tiap kelompok pada masing-masing pengamatan dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata jumlah fibroblas pada kelompok SPF 0, SPF 1, SPF 2, SPF 4.

Berdasarkan tabel 4.1 dan gambar 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah fibroblas pada kelompok SPF 0 lebih tinggi dari kelompok perlakuan lainnya.

Secara mikroskopis perubahan rata-rata jumlah osteoblas dari SPF 0, SPF 1, SPF 2 dan SPF 4 ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 4.2 Potongan secara transversal jaringan periodontal pada tikus *Sprague Dawley* pada kelompok SPF 0 sel-sel terlihat sangat padat karena memiliki jumlah sel fibroblas tertinggi (A), SPF 1 sel-sel yang terlihat padat (B), SPF 2 sel-sel terlihat sedikit karena jumlah sel fibroblas terendah (C), dan SPF 4 sel-sel terlihat jarang (D). Tanda panah menunjukkan sel fibroblas. 400x. *Hematoxilin Eosin*.

4.2 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh adalah data dengan skala rasio sehingga dapat diuji dengan uji parametrik *One Way Anova*, yang sebelumnya dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* karena data berjumlah 16 sampel. Pada masing-masing kelompok hasil $p > 0,05$ sehingga data dapat dinyatakan normal.

Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas dengan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk*

Kelompok	<i>Shapiro-Wilk</i>
SPF 0	,062
SPF 1	,189
SPF 2	,170
SPF 4	,942

Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's* untuk mengetahui apakah hasil perhitungan rata-rata fibroblas memiliki varian yang homogen dan berasal dari varian yang sama. uji homogenitas menggunakan uji *levene's*. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang lebih dari 2 kelompok sampel maka dilakukan uji *One Way Anova* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0,05$) yang ditampilkan pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil Uji Homogenitas *levene's* dan *One Way Anova* jumlah rata-rata fibroblas pada tikus *Sprague Dawley* yang mengalami distres kronis

	Uji <i>Levene's</i>	Uji <i>One Way Anova</i>
Sig.	,180	,011

Berdasarkan tabel 4.3 didapatkan hasil sebesar 0,180 yang berarti menunjukkan bahwa data tersebut memiliki varian data yang homogen atau data dari populasi varian yang sama, karena $p > 0,05$. Pada uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna rata-rata jumlah fibroblas karena didapatkan hasil p (sig) = 0,011. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat ada perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok yang ditunjukkan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Analisa dengan Uji LSD

	SPF 0	SPF 1	SPF 2	SPF 4
SPF 0	-	,050*	,003*	,004*
SPF 1	,050*	-	,166	,191
SPF 2	,003*	,166	-	,931
SPF 4	,004*	,191	,931	-

* perbedaan yang signifikan.

4.3 Pembahasan

Sel fibroblas di *ligament periodontal space* merupakan sel yang berfungsi mensintesis jaringan ikat dan serabut kolagen. Kolagen berperan penting dalam pengikatan gigi di dalam soket sehingga gigi tetap pada soketnya. Apabila terjadi gangguan pada tubuh yang disebabkan distres kronis maka akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan fibroblas, sehingga terjadi penurunan proliferasi sel fibroblas yang mengakibatkan jumlah kolagen akan menurun dan berlanjut dengan terjadinya kegoyangan dan kerusakan pada gigi (Anwar, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok yang diberikan distres menunjukkan hasil penurunan jumlah rata-rata sel fibroblas dimulai pada hari ke 7 (SPF 1) sampai hari ke 14 (SPF 2) tetapi pada hari ke 28 (SPF 4) kembali meningkat sedikit. Pada kelompok yang tidak diinduksi distres (SPF 0) memiliki jumlah rata-rata fibroblas tertinggi daripada kelompok yang diberikan distres.. Adanya penurunan jumlah rata-rata sel fibroblas ini disebabkan karena pada saat distres tubuh akan memberikan respon pertahanan yang dipengaruhi oleh dua sistem, yaitu sistem neurotransmitter dan sistem hormonal (Towsend, 1996). Anggota tubuh yang akan merespon stresor pertama kali adalah otak. Otak manusia mengatur dan mengkoordinir, gerakan, perilaku dan fungsi tubuh, homeostasis seperti tekanan darah, detak jantung, suhu tubuh, keseimbangan cairan, keseimbangan hormonal,

mengatur emosi, ingatan, aktivitas motorik dan lain-lain. Otak terbentuk dari dua jenis sel: yaitu sel glia dan sel neuron. Sel glia berfungsi untuk menunjang dan melindungi neuron, sedangkan neuron berfungsi untuk menyimpan dan membawa informasi yang di kenal sebagai potensial aksi. Neuron yang terdapat pada otak saling berinteraksi dengan neuron yang lain pada seluruh tubuh dengan mengirimkan berbagai macam bahan kimia yang disebut neurotransmitter. Neurotransmitter ini dikirimkan pada sinapsis. Neurotransmitter mempengaruhi sikap, emosi, dan perilaku seseorang. Terdapat beberapa neurotransmitter yang berperan sebagai pertahanan pada saat terjadi distres antara lain Asetil kolin, dopamin, serotonin, epinefrin, norepinefrin yang terdapat pada hipotalamus. Hubungan yang melibatkan antara neurotransmitter dengan neuron disebut sistem neurotransmitter (Pinel, 2009).

Sistem hormonal diawali dengan teraktifasinya *Hypothalamic pituitary adrenal* (HPA) aksis, yang bekerja apabila mengalami situasi yang mengancam. Setelah itu, hipotalamus merespon pelepasan *Corticotropic Releasing Hormone* (CRH) yang akan menstimuli hipofisis anterior untuk mensekresikan *Adenocorticotropic Hormone* (ACTH). ACTH akan beredar di dalam darah pada seluruh tubuh hingga mencapai korteks adrenal. Setelah mencapai korteks adrenal, ACTH akan memicu korteks adrenal untuk mensekresi hormon glukokortikoid, salah satu jenis hormon glukokortikoid adalah kortisol. Kortisol berfungsi untuk mempercepat pengedaran lemak dan asam amino yang berasal dari hati sampai ke seluruh sel yang terdapat pada tubuh melalui plasma darah. Lemak dan asam amino tersebut akan berfungsi untuk mensistesis zat yang ada pada masing-masing sel yang terkena dampak dari distres (Guyton, 2000).

Pada keadaan distres kronis, kemungkinan akan terjadi peningkatan yang berlebih pada sekresi hormon glukokortikoid yang salah satunya adalah hormon kortisol. Peningkatan sekresi hormon kortisol yang berlebih berfungsi untuk menjaga homeostatis tubuh selama tubuh dapat beradaptasi terhadap distres kronis dan diduga pada kondisi ini tubuh berada pada tahapan *resistance stage*. Apabila distres kronis yang terjadi memiliki intensitas stresor yang tinggi maka diduga tubuh tidak dapat beradaptasi atau disebut maladaptasi dan kemungkinan memasuki tahapan *exhaustion*

stage (Sherwood, 2001). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa pada saat tubuh mengalami maladaptasi kemungkinan akan terjadi disregulasi pada jalur HPA yang akan menyebabkan suatu kondisi patologis dalam tubuh, meskipun mekanisme yang lebih detail masih dilakukan penelitian (de Kloet *et al.*, 2005).

Pada kondisi yang patologis hormon kortisol akan menyebabkan kerusakan pada sel yang ada pada tubuh yang salah satunya adalah sel fibroblas. Hormon kortisol ini akan menghambat proses proliferasi sel fibroblas. Penghambatan proses proliferasi sel fibroblas ini karena diakibatkan menurunnya TGF β yang berfungsi sebagai menstimulasi sel-sel fibroblas, sehingga sel-sel fibroblas akan berkurang atau menurun (Prabakti, 2005). Mekanisme terjadinya penghambatan proses proliferasi fibroblas karena pengaruh dari kortisol masih dilakukan penelitian lebih lanjut dan belum adanya referensi yang membahas secara detail. Kemungkinan terjadinya penghambatan proliferasi fibroblas akan menurunkan jumlah sel fibroblas sehingga sel fibroblas akan sedikit memproduksi matriks kolagen yang berlanjut pada kegoyangan dan kerusakan pada gigi (Anwar, 2005).

Rendahnya jumlah fibroblas setelah 7 hari (SPF 1) diinduksi distres karena adanya dugaan tubuh berada pada tahap *exhaustion stage*. Tanda tahapan tersebut adalah tikus mengangkat kaki depannya saat diberikan renjatan listrik. Pada kondisi ini menurut Prabakti (2005), terjadi peningkatan hormon kortisol secara terus menerus sebagai respon terhadap distres kronis akibatnya akan menghambat proliferasi fibroblas.

Jumlah sel fibroblas semakin menurun pada induksi distres selama 14 hari (SPF 2) walaupun secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan. Minggu kedua induksi distres meningkatkan jumlah kortisol masih berlanjut, tetapi tidak sebanyak pada minggu pertama karena pada minggu kedua, tubuh sudah mulai melakukan adaptasi terhadap distres sehingga peningkatan jumlah kortisol lebih dapat dikontrol (Selye, 1982).

Induksi distres selama 28 hari (SPF 4) jumlah sel fibroblas mengalami penurunan yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok SPF 0, akan tetapi

jumlahnya sel fibroblas lebih tinggi bila dibandingkan dengan induksi distres 14 hari (SPF 2). Hal ini disebabkan pada hari ke 28 diduga hanya mencapai tahapan *resistance stage* yang ditandai dengan kondisi sampel tidak banyak melakukan aktifitas seperti biasanya. Pada kondisi ini tubuh sudah dapat mengontrol keadaan distres dan tidak terjadi peningkatan kortisol yang berlebih (Selye, 1982).

Pada penjelasan diatas menunjukkan bahwa distres kronis akibat renjatan listrik dengan jangka waktu yang lama selama 2 minggu dan secara terus-menerus dapat mengakibatkan penurunan jumlah fibroblas di *ligament periodontal space* tikus *Sprague Dawley* tetapi akan berangsur membaik pada minggu keempat karena tubuh sudah mulai beradaptasi terhadap lingkungan. Pada tabel data diatas juga sesuai dengan hipotesis penelitian yaitu terjadinya penurunan jumlah sel fibroblas pada saat terjadi distres kronis yang mengakibatkan berkurangnya jumlah sel fibroblas di *ligament periodontal space* tikus *Sprague Dawley*.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa perbedaan lama waktu distress kronis akibat renjatan listrik dapat menurunkan jumlah fibroblas di *ligament periodontal space* pada tikus *Sprague Dawley*. Induksi distress selama 14 hari mengakibatkan penurunan jumlah fibroblas, akan tetapi pada induksi distress selama 28 hari jumlah fibroblas kembali meningkat.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang adanya faktor lokal misalnya, diinduksi bakteri pada kelompok yang diberikan renjatan listrik (distres kronis).
2. Perlu dilakukan penelitian tentang jumlah kortisol pada masing-masing kelompok.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan jenis stresor yang berbeda.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan daerah perhitungan yang lebih relevan, agar diperoleh hasil lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan. 2010. *Jaringan Ikat*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Makassar: UNM
- Ansar, E.. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin Dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Sistem Imun Mukosal Tikus Yang Stress Akibat Stressor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psikoneuro imunologi*. Disertasi Program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Anwar, R. 2005. Fungsi Kelenjar Adrenal dan Kelainannya. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bandung: Fakultas Kedokteran UNPAD
- Bloom, F. 1994. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta : EGC.
- Carlson. 2005. *What is addiction.in foundations of physiological Psychology*. 6 th edition.USA: Pearson
- Dalimunthe, S. *Periodonsia*. Edisi ke-2. Medan: Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, 2008: 55-7; 106-15; 118-21; 155-6.
- Daniel, W. 2005. *Biostatistics a Foundation for Analysis in the Health Science 5th edition*. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Dorland, W. 2000. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 29. Alih bahasa oleh Huriawati Hartanto. Jakarta: EGC.
- Fawcett. 2002. *Buku Ajar Histology*. Edisi 12. Terjemahan Jan Tambayong. Jakarta: EGC
- Gabriel. J. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta: EGC. 99 – 101
- Gatchel, R., Baum, A., and Krantz, D. (1989). *An Introduction to Health.Psychology*. Singapore: McGraw-Hill.
- Girdano, L. 2005. *Controlling Stress and Tension .7th edition*. San Fransisco : Benjamin Cummin
- Greenberg, M., Glick, M., and Ship, J. 2004. *Oral Medicine*. 11st edition. Hamilton: B.C. Decker Inc.

- Grossman, L. 1995. *Ilmu Endodontik Dalam Praktek*. Alih bahasa. Rafiah.Abiyono. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Guyton A. 2000. *Text Book of Medical Physiology*. 10th. Ed. USA: W.B. Saunders Co.
- Hole J. 1981. *Human Anatomy and Physiology*. 2th Ed. Dubuque-Lowa: WCB.
- Howe, L. dan Whitehead, F. *Anastesi Lokal*. Edisi 3. Alih bahasa oleh Lilian Yuwono.1992. Jakarta: Hipokrates.
- Junqueira, L. 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik Histology. Dasar: teks dan atlas*. Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Kiernan, J. 1981. *Histological and Histochemical Methods Theory and Practice. Department of Anatomy*. Canada: Pergamon Press.
- Lacopindo. 2009 .Stress. Canada: *JCDA (Journal of the Canadian Dental Association)*
- Lumongga, F. 2008. Apoptosis. Tidak Diterbitkan. Makalah. Medan:USU
- Manenschijn, L. 2013. *Cortisol exposure and sensitivity in health and disease*. The Netherlands: Erasmus University Rotterdam.
- Manson J., and Barry M. *Outline of Periodontics*. 2005. Philadelphia: Elsevier
- Mescher, A. 2010. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. 12th Edition. The Mc Graw Hill Companies Inc.
- Morgan, C. and King, R. 1986. *Introduction to Psychology*. New York: McGraw-Hill Book Company.
- Murray, R. K., and Granner, D. K. 2006. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta : EGC
- Mustaqimah, D. Inflamasi Gingiva dan Penanggulangan Praktisnya. *Indonesian J*. 2008; 2 : 2-3.
- Nanci, A and Boshard, D. Ligament periodontal Tissues Health and Disease. *Periodontology*. 2000. 40: 11-28.
- Nasution, I. 2007. Stres Pada Remaja. (Skripsi). Universitas Sumatra Utara. Medan

- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi penelitian kesehatan*. Edisi Revisi. Rineka Cipta, Jakarta
- Pinel, J. 2009. *Stres dan Kesehatan. Dalam: Biopsikologi Edisi ke-7*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 557-565.
- Prabakti, Y. 2005. Perbedaan Jumlah Fibroblas Di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain Dan Yang Tidak Diberi Levobupivakain. (Disertasi). Semarang: Universitas Diponegoro
- Rice, L. 1999. *Stress and Health*. London: Brooks Cole Publishing Company.
- Rikasari. 2007. *Biologi oral*. Tidak Diterbitkan. Skripsi Jakarta: Universitas Indonesia
- Selye, H. 1982. *History and Present Status of The Stress Concept. Books of Stress Theoretical and clinical Aspect*. Editor: Gold Belger, L and Broznitz, S.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi manusia: Dari sel ke sistem*. Ed. 2. Jakarta: EGC
- Simson D., dan Silalahi J. Kebutuhan Perawatan Penyakit Periodontal Dan Perilaku Pemeliharaan Gigi Pada Masyarakat Di Kecamatan Pangururan Samosir. *J. Dentika Dent.* 2011; 16: 154-155.
- Situmorang, N. Status Dan Perilaku Pemeliharaan Kesehatan Gigi dan Mulut Murid Sekolah Di 8 Kecamatan Di Kota Medan. *J. Dentika Dent.* 2008; 13 : 115
- Sriati, A. 2008. *Tinjauan tentang Stres*. Makalah Fakultas Ilmu Keperawatan. UNPAD. Jatinangor.
- Sudiana, I. 1993. *Teknik Praktis Untuk Jaringan Sel*. Bali: CV Dharma Sandi.
- Sumintarti. 1997. *Pengaruh Asap Rokok dan Stres Terhadap Respon Imun Mencit*. (Disertasi). Surabaya: UNAIR.
- Townsend, M. 1996. *Psychiatri Mental Health Nursing : Concepts of Care second edition*. Philadelphia: Davis Company.
- Vogel, F. 2006. *Stress In The Workplace: The Phenomenon, Some Key Correlates and Problem Solving Approach*. (Disertasi). Pretoria: Faculty of Humanities, University of Pretoria

Walker, J. 2002. Teens in distress series Adolescence stress and depression. <http://www.extension.umn.edu/distribution/youthdevelopment/DA3083.html>. (1 Mei 2014)

Xin Lv., Li, Q., Wu S., Sun J., Zhang M., Chen Y J., 2012. Psychological Stress Alters the Ultrastructure and Increase IL-1 β and TNF- α in Mandibular Condylar Cartilage. *Brazilian J. of Med. Bio. Res.* Vol. 45: 968-967



LAMPIRAN A. PENGHITUNGAN BESAR SAMPEL

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan (Daniel, 2005), yaitu:

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

n = jumlah sampel minimum

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditolerir, diasumsikan $d = \sigma$

Z = konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$

Oleh karena itu, perhitungannya menjadi :

$$\begin{aligned} n &= \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2} \quad \text{dengan asumsi } d = \sigma \\ &= (1,96)^2 \\ &= 3,84 \\ &= 4 \end{aligned}$$

Jadi, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 16 hewan coba yang terbagi dalam 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus.

LAMPIRAN B. Data Hasil Perhitungan Jumlah Rata-Rata Fibroblas

SPF 0			
No	pengamat 1	pengamat 2	pengamat 3
1	126,67	122,00	126,67
2	112,00	116,00	120,33
3	117,33	124,67	118,33
4	162,00	169,67	165,00

SPF 1			
No	pengamat 1	pengamat 2	pengamat 3
1	110,50	94,33	84,33
2	127,00	102,33	102,67
3	137,25	106,33	106,33
4	141,50	100,33	104,00

SPF 2			
No	pengamat 1	pengamat 2	pengamat 3
1	95,67	111,33	112,33
2	86,33	77,33	94,00
3	86,00	75,67	94,33
4	93,67	106,33	105,67

SPF 4			
No	pengamat 1	pengamat 2	pengamat 3
1	102,67	103,33	106,00
2	89,00	94,00	92,67
3	87,67	82,33	82,00
4	94,67	98,00	103,00

LAMPIRAN C. *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 Punca Mesenkimal Ligamen Periodontal
Pada Mobilitas Gigi Tikus Sprague Dawley Yang
Mengalami Kondisi Distress Kerja (Pendekatan
Psikoneuroimunologi)

PENELITI UTAMA : Zahreni Hamzah

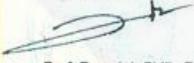
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Program Studi Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 2 Agustus 2013

Mengetahui,
Dekan FKH-Unair,

Ketua,


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


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

LAMPIRAN D. Uji Normalitas dan Homogenitas**D.1 Deskriptif**

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
SPF 0	4	131,7225	22,85681	11,42841
SPF 1	4	109,7450	9,26263	4,63131
SPF 2	4	94,8875	10,87499	5,43749
SPF 4	4	95,7800	9,17303	4,58652
Total	16	108,0338	19,96693	4,99173

D.2 Uji Normalitas

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
fibroblas SPF 0	,773	4	,062
SPF 1	,838	4	,189
SPF 2	,831	4	,170
SPF 4	,987	4	,942

D.3 Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,924	3	12	,180

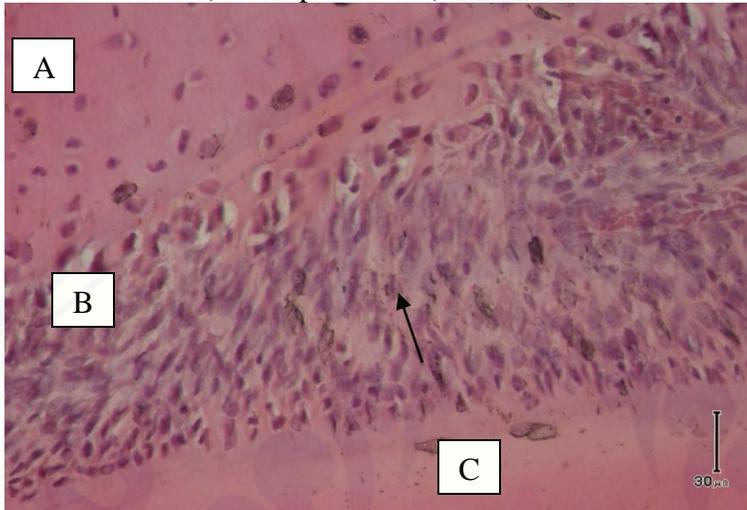
LAMPIRAN E. Uji Parametrik *One Way Anova* dan LSD**E. 1 ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3548,254	3	1182,751	5,836	,011
Within Groups	2431,920	12	202,660		
Total	5980,175	15			

E. 2 Uji LSD

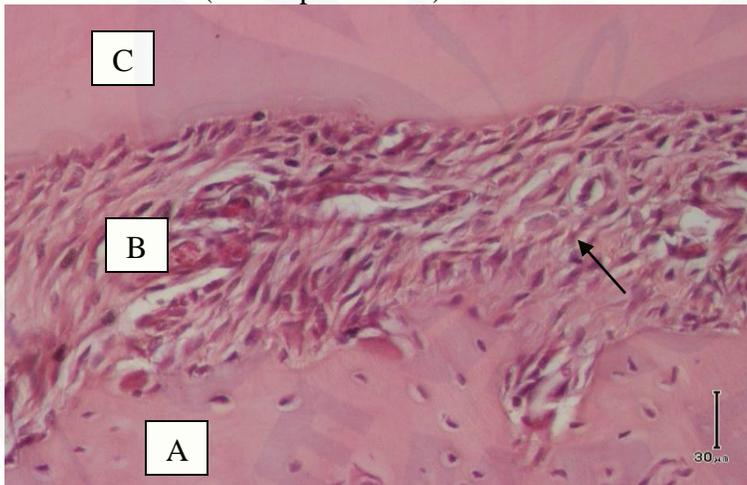
LSD

Kelompok	Kelompok	Sig.	95% Confidence Interval	
			Upper Bound	Lower Bound
SPF 0	SPF 1	,050*	,0450	43,9100
	SPF 2	,003*	14,9025	58,7675
	SPF 4	,004*	14,0100	57,8750
SPF 1	SPF 0	,050*	-43,9100	-,0450
	SPF 2	,166	-7,0750	36,7900
	SPF 4	,191	-7,9675	35,8975
SPF 2	SPF 0	,003*	-58,7675	-14,9025
	SPF 1	,166	-36,7900	7,0750
	SPF 4	,931	-22,8250	21,0400
SPF 4	SPF 0	,004*	-57,8750	-14,0100
	SPF 1	,191	-35,8975	7,9675
	SPF 2	,931	-21,0400	22,8250

Lampiran F Foto Kegiatan Penelitian**F 1. Foto Mikroskop Sel Fibroblas****F 1.1 Fibroblas (Kelompok SPF 0)**

1.1. Potongan secara transversal jaringan periodontal pada tikus *Sprague Dawley* pada kelompok SPF 0. Tanda panah menunjukkan sel fibroblas. 400x.
Hematoxilin Eosin.

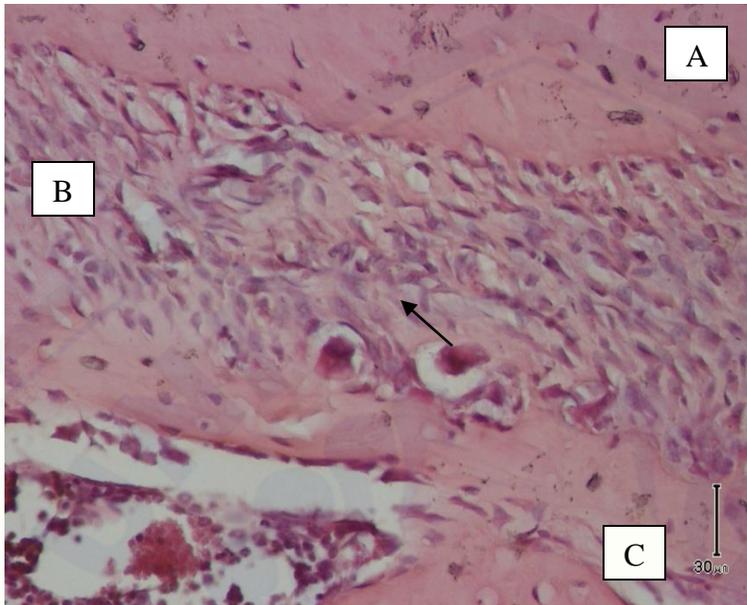
Keterangan : A. Sementum, B. *Ligament periodontal space*, C. Tulang alveolar.

F.1.2 Fibroblas (Kelompok SPF 1)

1.2. Potongan secara transversal jaringan periodontal pada tikus *Sprague Dawley* pada kelompok SPF 1. Tanda panah menunjukkan sel fibroblas. 400x.
Hematoxilin Eosin.

Keterangan : A. Sementum, B. *Ligament periodontal space*, C. Tulang alveolar.

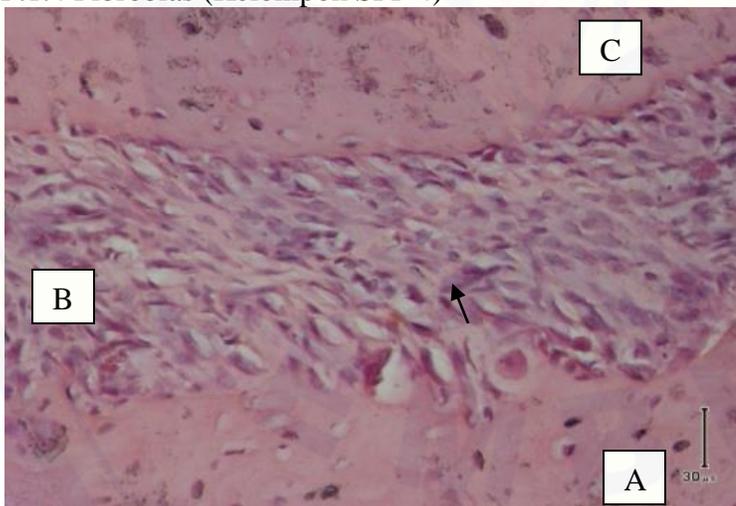
F.1.3 Fibroblas (Kelompok SPF 2)



1.3. Potongan secara transversal jaringan periodontal pada tikus *Sprague Dawley* pada kelompok SPF 2. Tanda panah menunjukkan sel fibroblas. 400x. *Hematoxilin Eosin*.

Keterangan : A. Sementum, B. *Ligament periodontal space*, C. Tulang alveolar.

F.1.4 Fibroblas (Kelompok SPF 4)



1.4 Potongan secara transversal jaringan periodontal pada tikus *Sprague Dawley* pada kelompok SPF 2. Tanda panah menunjukkan sel fibroblas. 400x. *Hematoxilin Eosin*.

Keterangan : A. Sementum, B. *Ligament periodontal space*, C. Tulang alveolar.

F 2. Alat



2. 1 Mikrotom



2. 2 Alat impregnasi



2. 3 water bath



2. 4 hot plate



2. 5 Oven



2. 6 Stop Watch



2. 7 kotak pewarnaan HE



2. 8 Handscoon



2. 9 deck glass



2. 10 Kulkas



2. 11 Timbangan



Keterangan 2.12 :

- 1. Tabung preparat
- 2. Gunting bedah
- 3. Pinset
- 4. *scalpel*



2.13 *electrical footshock*



2.14 Kandang Tikus



2.15 Tabung Inhalasi



2.16 Alat *Shaker*



2.17 Larutan Eter

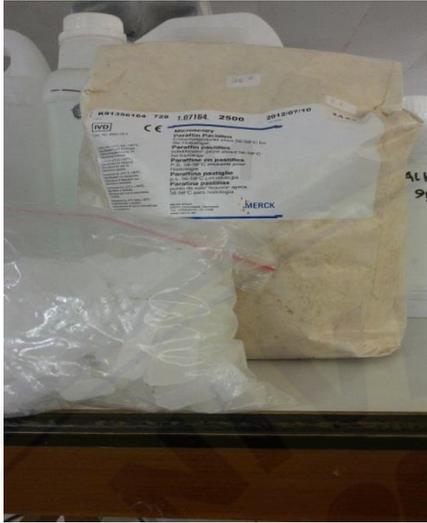


F 3. Bahan Penelitian

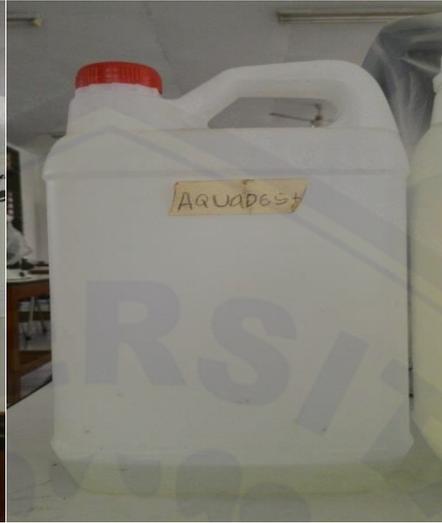
Gambar 3.1

Keterangan :

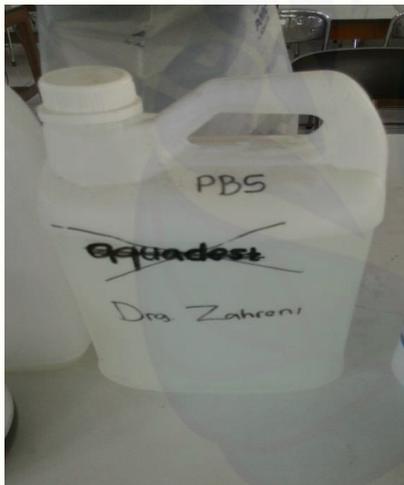
1. Alkohol 95%
2. Alkohol 70%
3. EDTA
4. Alkohol 100% (Absolut)
5. Alkohol 80%
6. Buffer Formalin 10%



Gambar 3.2 Parafin



Gambar 3.3 Aquades



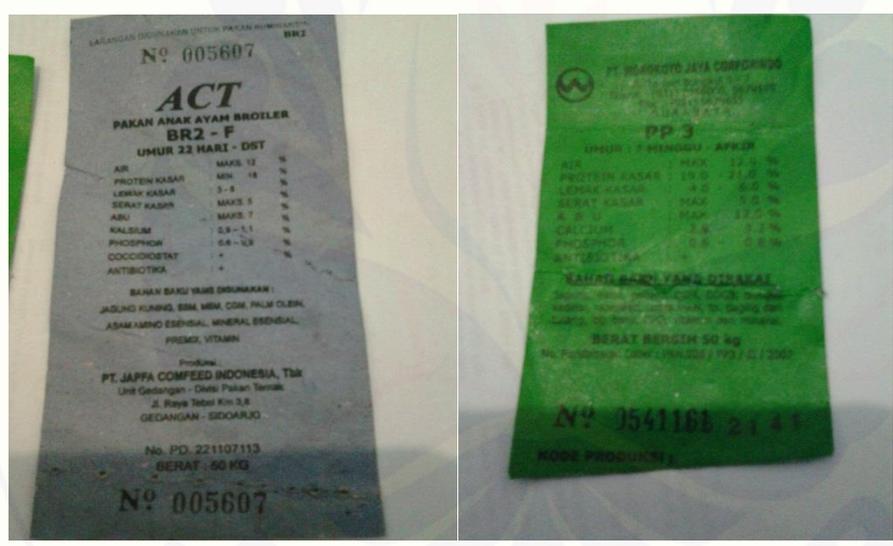
Gambar 3.4 Larutan PBS



Gambar 3.5 Xylol



Gambar 3.6 Poly lisine Gambar 3.7 Ethyl Chloride



Gambar 3.8 Makanan Standar Tikus



Gambar 3.9 Proses pengambilan
Rahang

Gambar 3.10 Rahang yang telah
terambil