

**PENGARUH STRESOR RASA SAKIT TERHADAP KETEBALAN
EPITEL GINGIVA DAN JUMLAH SEL NEUTROFIL PADA
TIKUS *WISTAR* JANTAN YANG DIPAPAR BAKTERI
ESCHERICHIA COLI
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS)**

SKRIPSI

| | | |
|---------------|-------------|--------|
| Asal : | Hadiah | Klass |
| | Persewaan | 616.98 |
| Terima di : | 08 MAR 2006 | RAM |
| No. induk : | | C.P.P |
| Pengkatalog : | | |

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**

Oleh :

SASI SUCI RAMADHANI

011610101084

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

Pernyataan

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sasi Suci Ramadhani

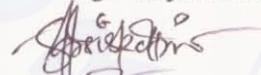
Nim : 011610101084

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva Dan Jumlah Sel Neutrofil Pada Tikus *Wistar* Jantan Yang Dipapar Bakteri *Escherichia coli*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran karya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 31 Desember 2005

Yang menyatakan



Sasi Suci Ramadhani

011610101084

Diterima oleh:
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember
Sebagai Karya Tulis Ilmiah (Skripsi)

Dipertahankan pada :

Hari : Sabtu
Tanggal : 31 Desember 2005
Tempat : Ruang Ujian Skripsi
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua



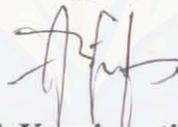
drg. Izzata Barid, M.Kes
NIP. 132 162 520

Sekretaris



drg. Yani C. Rahayu, M.KG
NIP. 132 206 084

Anggota,



drg. Atik Kurniawati, M.Kes
NIP. 132 206 024

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

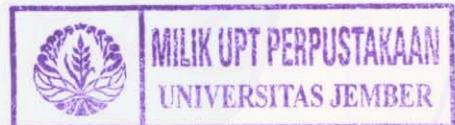


drg. Zahreni Hamzah, M. S.
NIP. 131 558 576

Motto

*Everything great is not always good,
but all good things are great*

(Demosthenes)



PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini kepada :

Allah SWT Raja Semesta Alam

Papaku Achijat dan Mamaku Endang Siswatiningsih

yang telah memberiku cinta kasih sejak aku hadir di dunia, dengan do'a, pengorbanan dan perjuangan yang selalu menyertai hidupku.

Kakakku Ir. Dwi Pelita Ningtyas, Tri Ari Bawanti S.T,

Heru Catur Priyanto S.T serta Kakak Iparku Ir. Sahril Sp-PSDA, Teddy Hasan Prabowo S.T, Ratna Hastuti S.T yang selalu memberiku kasih sayang, semangat,

doa dan dana demi keberhasianku.

Keponkanku Rizky Rizaldi N.S, Amalia Dhienisa S, Oryza Brilliant P,

Irfham Adisa P, Thialita Andhiera N keceriaan kalian

selalu memberiku inspirasi.

My Fiance drg Adi Wahyudin kesabaran dan pengertian selalu menghiujaniku pada

setiap langkahku

Almamaterku dan Bangsaaku

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufik dan hidayahnya, atas kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Stresor Rasa Sakit Terhadap Penurunan Ketebalan Epitel dan Jumlah Neutrofil Pada Tikus *Wistar Jantan yang Dipapar Bakteri *Escherichia coli*”***.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini diselesaikan guna memenuhi persyaratan akademik dalam rangka menyelesaikan program kesarjanaan (Strata I) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya pada :

1. Papa mamaku serta seluruh keluarga besarku yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang dan pengorbanan demi tercapainya cita-citaku
2. drg. Zahreni Hamzah, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. drg. Rahardyan Pranaadji, M.Kes selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Jember yang telah berkenan memberikan kesempatan bagi penulis untuk melakukan penelitian hingga terselesaikannya penulisan ini.
4. drg. Izzata Barid, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama yang dengan kesabarannya selalu memberikan bimbingan dan nasehat bagi penulis hingga penulis dapat menyelesaikan penulisan ini.
5. drg. Atik Kurniawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota, terima kasih atas segala masukan yang diberikan pada penulisan ini.
6. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG selaku Sekretaris dan Dosen Wali yang senantiasa dengan penuh kesabaran selalu memberi nasehat, dukungan dan bimbingan pada penulis.
7. Seluruh Dosen dan Staf Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember serta Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Mas Agus, Mbak Wahyu, Pak Pin, Erwin terima kasih atas bantuannya dan waktu yang diluangkan selama penelitian.

8. drg. Adi Wahyudin yang dengan tulus dan sabar selalu mendengarkan keluh kesahku, penantianmu memberikan motivasi untuk cepat menyelesaikan studi ini.
9. Keluarga besar Sorong, dengan doa yang tiada putus serta dukungan yang selalu menyertaiku.
10. 7Up : Adisti, Farida, Ratri, Adit, Dani dan Agung terimakasih telah menjadi sahabatku, mempunyai kalian adalah salah satu alasan aku tetap bertahan disini.
11. Family of Brantas XIII/3, special to Mbak Lail, Ibu Risna, Mbak U'ut, Mbak Ratih yang setiap hari selalu dengan keceriaan menemanikku dikala suka dan duka.
12. "Boo" somewhere, thanks for accompany me and for all the great experiences which teach me better.
13. Rekan sepenelitian Sofan, Joko dan Chandra.
14. Rekan-rekan seperjuangan "Caninus 2001" .
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dan terlibat dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi semua dan merupakan sumbangsih yang berharga bagi khasanah ilmu pengetahuan, terutama dibidang Kedokteran Gigi.

Jember, Desember 2005

Penulis

RINGKASAN

Sasi Suci Ramadhani, Nim. 011610101084, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva Dan Jumlah Sel Neutrofil Pada Tikus *Wistar* Jantan Yang Dipapar Bakteri *Escherichia coli* (Penelitian Eksperimental Laboratoris), Dibawah bimbingan drg. Izzata Barid, M. Kes (DPU) dan drg. Atik Kurniawati, M. Kes (DPA).

Stres merupakan bagian dari kehidupan yang dapat disebabkan oleh peristiwa-peristiwa dan ketegangan pada kehidupan sehari-hari. Stres mempunyai pengaruh yang sangat luas dan dapat menyebabkan gangguan diseluruh tubuh termasuk rongga mulut. Kondisi tubuh yang lemah akan mudah terkena infeksi, oleh karena itu epitel sebagai barier pertahanan pertama dan sel neutrofil yang merupakan fagosit utama dalam sistem imun, keberadaannya mutlak diperhatikan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian stresor rasa sakit terhadap ketebalan epitel dan jumlah sel neutrofil pada tikus *Wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli*. Manfaat penelitian adalah memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stresor rasa sakit dengan pemaparan bakteri *Escherichia coli* terhadap ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel neutrofil, dan dapat digunakan dalam aplikasi klinis untuk menangani pasien dengan kondisi stres terhadap respon tubuh melawan penyakit.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yang dilaksanakan pada bulan Juni sampai Juli 2005 pada tikus *Wistar* dengan jenis kelamin jantan. Populasi sampel terdiri dari 24 ekor yang dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu kelompok tanpa pemaparan stresor rasa sakit maupun bakteri *Escherichia coli* sebagai kelompok kontrol negatif (-), kelompok yang hanya diberi paparan bakteri *Escherichia coli* sebagai kelompok kontrol positif (+) dan kelompok yang dilakukan pemberian stresor rasa sakit dan pemaparan bakteri *Escherichia coli* sebagai kelompok perlakuan. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan uji Tukey HSD.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada ketebalan epitel dan jumlah sel neutrofil pada masing-masing perlakuan dengan nilai signifikan 0,000 ($P < 0,05$) setelah diuji dengan *One Way Anova*. Pada Tukey HSD juga menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) pada semua kelompok. Stres dapat meningkatkan kadar kortisol dan menurunkan sitokin. Apabila jumlah sitokin menurun maka homeostasis sel epitel menurun, sehingga kemampuan sel epitel membentuk sel baru melalui proses mitosis dan proliferasi sel akan terganggu. Peningkatan kortikosteroid dapat mengkatabolisme protein sehingga terjadi penyusutan sel-sel penyusun jaringan sehingga sel-sel epitel kehilangan perlekatannya pada lamina basal. Peningkatan kortisol akan mempengaruhi respon imun dengan menurunkan respon kemotaktik dan fagositik PMN, sehingga terjadi penurunan jumlah neutrofil.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PERNYATAAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| HALAMAN MOTTO | iv |
| PERSEMBAHAN | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| RINGKASAN | viii |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Stres | 4 |
| 2.1.1 Definisi Stres..... | 4 |
| 2.1.2 Pengaruh Stres..... | 4 |
| 2.1.3 Stresor Rasa Sakit Akibat Renjatan Listrik..... | 5 |
| 2.2 Epitel | 7 |
| 2.1.1 Jaringan Epitel..... | 7 |
| 2.2.2 Fungsi Epitel..... | 7 |
| 2.2.3 Adhesi Antar Sel Epitel | 7 |
| 2.3 Gingiva | 7 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.1 Definisi Gingiva | 7 |
| 2.3.2 Pembagian Gingiva | 8 |
| 2.3.3 Epitel Gingiva..... | 9 |
| 2.4 Sel Neutrofil | 11 |
| 2.4.1 Definisi Sel Neutrofil..... | 11 |
| 2.4.2 Mekanisme Kerja Neutrofil..... | 12 |
| 2.4.3 Neutrofil Tikus Putih..... | 13 |
| 2.5 Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 14 |
| 2.5.1 Definisi <i>Escherichia coli</i> | 14 |
| 2.5.2 Morfologi Bakteri..... | 14 |
| 2.5.3 Struktur Antigen..... | 15 |
| 2.5.4 Penyakit-penyakit yang Disebabkan Oleh <i>Escherichia coli</i> | 15 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN | 17 |
| 3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian | 17 |
| 3.1.1 Jenis Penelitian..... | 17 |
| 3.1.2 Waktu Penelitian | 17 |
| 3.1.3 Tempat Penelitian..... | 17 |
| 3.2 Identifikasi Variabel Penelitian | 17 |
| 3.2.1 Variabel Bebas | 17 |
| 3.2.2 Variabel Terikat..... | 17 |
| 3.2.3 Variabel Terkendali..... | 17 |
| 3.3 Definisi Operasional..... | 18 |
| 3.3.1 Stresor Rasa Sakit..... | 18 |
| 3.3.2 Bakteri <i>Escherichi coli</i> | 18 |
| 3.3.3 Ketebalan Epitel..... | 18 |
| 3.3.4 Gingiva..... | 18 |
| 3.3.5 Sel Neutrofil | 18 |
| 3.4 Populasi, Kriteria dan Besar Sampel..... | 19 |
| 3.4.1 Populasi Sampel..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 3.4.2 Kriteria Sampel..... | 19 |
| 3.4.3 Besar Sampel..... | 19 |
| 3.5 Alat dan Bahan Penelitian..... | 20 |
| 3.5.1 Alat | 20 |
| 3.5.2 Bahan | 20 |
| 3.6 Prosedur Penelitian | 20 |
| 3.6.1 Tahap Persiapan Pada Hewan Coba | 20 |
| 3.6.2 Tahap Persiapan Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 21 |
| 3.6.3 Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba..... | 22 |
| 3.6.4 Tahap Preparasi Jaringan Gingiva | 23 |
| 3.6.5 Tahap Pembuatan Sediaan Jaringan Gingiva..... | 23 |
| 3.6.6 Tahap Pengecatan Hematoxylin Eosin..... | 23 |
| 3.7 Tahap Pengamatan..... | 24 |
| 3.8 Analisis Data | 24 |
| Alur Penelitian | 25 |
| BAB 4. HASIL DAN ANALISIS DATA | 26 |
| 4.1 Hasil Penelitian..... | 26 |
| 4.2 Analisis Data | 32 |
| BAB 5. PEMBAHASAN | 37 |
| BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN | 41 |
| 6.1 Kesimpulan | 41 |
| 6.2 Saran..... | 41 |
| DAFTAR PUSTAKA | 42 |
| LAMPIRAN | 46 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Pengukuran Ketebalan Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Kontrol Positif dan Perlakuan..... | 26 |
| Tabel 2. Perhitungan Jumlah Sel Neutrofil Kelompok Kontrol Negatif Kontrol Positif, dan Kelompok Perlakuan..... | 28 |
| Tabel 3. Hasil Uji Normalitas <i>Kolmogorov Smirnov</i> Dari Rata-Rata Ketebalan Epitel Pada Tiap- Tiap Kelompok..... | 33 |
| Tabel 4. Hasil Uji Normalitas <i>Kolmogorov Smirnov</i> Dari Rata-Rata Jumlah Neutrofil Pada Tiap-Tiap Kelompok..... | 33 |
| Tabel 5. Hasil Uji Homogenitas <i>Levene's Test</i> Dari Rata-Rata Ketebalan Epitel Pada Tiap-Tiap Kelompok..... | 34 |
| Tabel 6. Hasil Uji Homogenitas <i>Levene's Test</i> Dari Rata-Rata Jumlah Neutrofil Pada Tiap-Tiap Kelompok..... | 34 |
| Tabel 7. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Dari Rata-Rata Ketebalan Epitel Gingiva..... | 34 |
| Tabel 8. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Dari Rata-Rata Jumlah Neutrofil.. | 35 |
| Tabel 9. Hasil Uji Tukey HSD Dari Ketebalan Epitel Gingiva..... | 35 |
| Tabel 10. Hasil Uji Tukey HSD Dari Jumlah Neutrofil..... | 36 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. Sel Neutrofil..... | 12 |
| Gambar 2. Morfologi Neutrofil Dengan Gambaran Isinya..... | 13 |
| Gambar 3. Sel <i>Escherichia coli</i> dan Koloni <i>Escherichia coli</i> pada EMB Agar..... | 15 |
| Gambar 4. Grafik Perbandingan Penurunan Ketebalan Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif, Dan Kelompok Perlakuan..... | 27 |
| Gambar 5. Grafik Perbandingan Jumlah Sel Neutrofil Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif, Dan Kelompok Perlakuan..... | 29 |
| Gambar 6. Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif..... | 29 |
| Gambar 7. Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Positif..... | 30 |
| Gambar 8. Epitel Gingiva Kelompok Perlakuan..... | 30 |
| Gambar 9. Sel Neutrofil Pada Kelompok Kontrol Negatif..... | 31 |
| Gambar 10. Sel Neutrofil Pada Kelompok Kontrol Positif..... | 31 |
| Gambar 11. Sel Neutrofil Pada Kelompok Perlakuan..... | 32 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Perhitungan Besar Sampel..... | 46 |
| Lampiran 2. Komposisi Makanan Standart Tikus..... | 47 |
| Lampiran 3. Tahap Pembuatan Sediaan..... | 48 |
| Lampiran 4. Tahap Pengecatan Hematoxylin Eosin..... | 49 |
| Lampiran 5. Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Perlakuan..... | 50 |
| Lampiran 6. Sel Neutrofil pada Jaringan Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Perlakuan..... | 52 |
| Lampiran 7. Alat dan Bahan Pembuatan Jaringan..... | 54 |
| Lampiran 8. Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil dan Analisa Data.... | 55 |
| Lampiran 9. Hasil Perhitungan Ketebalan Epitel dan Analisa Data.... | 57 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Sampai saat ini semua orang membicarakan tentang stres karena memang hal tersebut merupakan bagian dari kehidupan (Priandini dan Subita, 1999). Stres dapat disebabkan oleh peristiwa/kejadian tertentu, ketegangan pada kehidupan sehari-hari, atau ketegangan kronis (Yayasan Pendidikan Ani Idrus, 2004). Tubuh kita secara langsung maupun tidak, akan memberikan respon terhadap tekanan dan gangguan disekitar kita yang menyebabkan ketegangan fisik dan mental/emosional yang lazim disebut stres. Gangguan psikogenik (stres dan depresi) mempunyai pengaruh yang sangat luas dan dapat menyebabkan gangguan di seluruh organ tubuh termasuk didaerah orofasial (Fitri dan Setyawati, 2002). Priandini dan Subita (1999) menyatakan bahwa stres seringkali menyebabkan kelainan-kelainan di dalam rongga mulut. Sebagai contohnya adalah sindroma mulut terbakar, rasa sakit dan ulserasi. Faktor stres menjadikan suatu penyakit bekerja melalui proses imunologik (Suryadhana, 1997) walaupun begitu mekanisme terganggunya respon imunologik pada keadaan stres belum diketahui secara jelas.

Berdasarkan pendekatan *Medicophysiological Approach* (MA), stres adalah respon terhadap stresor (Sulistiyani, 2003). Salah satu bentuk stresor fisik dapat berupa rasa sakit. Penelitian Sumintarti (1997) menyatakan bahwa pemberian stresor rasa sakit dengan *electrical foot shock* menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah. Respon tubuh manusia terhadap stres akan merangsang hipotalamus untuk mengeluarkan hormon adrenalin dan kortisol, hormon ini meningkatkan detak jantung, pernafasan, tekanan darah, dan metabolisme (Dowshen dan Woomer, 2004). Djamal dan Winiati (1999) mengatakan bahwa aktifitas biologik sel seperti proliferasi, diferensiasi, maturasi dan kematian sel sangat bergantung pada aktifitas sitokin. Dari hal tersebut diatas, diduga

stres dapat menghambat proliferasi sel epitel yang berdampak pada penurunan ketebalan epitel jaringan. Kondisi tubuh yang lemah akan mudah terkena infeksi, oleh karena itu epitel sebagai barier pertahanan pertama, ketebalannya mutlak dipertahankan. Stres yang timbul akan menyebabkan berbagai gangguan terutama sistem ketahanan tubuh sehingga terjadi gangguan respon imun yang dapat menyebabkan suatu penyakit (Suhardjo, 2003). Sistem imun yang terganggu menimbulkan perubahan fungsi imun, khususnya pada sistem imun seluler misalnya neutrofil (Roeslan, 2002). Suryadhana (1997), dalam penelitiannya menyatakan bahwa sistem syaraf pusat sangat responsif terhadap stres dengan melepaskan kortikosteroid yang pada akhirnya mempengaruhi sistem imun yang mengakibatkan terjadinya penurunan jumlah neutrofil.

Penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan tikus putih *wistar*. *Escherichia coli* adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Bakteri ini tidak menimbulkan penyakit pada *host*, namun dapat berubah menjadi patogen jika terjadi perubahan pada tubuh *host* (Karsinah dkk, 1993). Tikus putih *wistar* dipilih karena termasuk golongan omnivora yang memiliki alat pencernaan dan kebutuhan nutrisinya hampir sama dengan manusia (Barker, 1979). Tikus *wistar* juga memiliki struktur mukosa rongga mulut yang mirip dengan rongga mulut manusia (<http://www.google.com>, 2004). Tikus ini diberi stresor rasa sakit dengan alat “*electrical foot shock*” karena intensitas renjatan listrik dapat terukur dengan tepat, penyaluran arus listrik dari kaki ke seluruh tubuh termasuk otak dan pemulihan setelah renjatan listrik tidak ada efek ikutan. Banyak penelitian telah dilakukan dengan renjatan listrik sebagai stresor untuk menimbulkan stres dan memberi dampak pada target spesifik telah terbukti dan menunjukkan akurasi yang tepat (Asnar, 2001). Dari uraian tersebut peneliti ingin mengetahui Pengaruh Stresor Rasa Sakit Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva dan Jumlah Sel Neutrofil pada Tikus *Wistar* Jantan yang Dipapar Bakteri *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh pemberian stresor rasa sakit terhadap ketebalan epitel tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli* ?
2. Bagaimana pengaruh pemberian stresor rasa sakit terhadap jumlah sel neutrofil tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian stresor rasa sakit terhadap ketebalan epitel gingiva pada tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian stresor rasa sakit terhadap jumlah sel neutrofil pada tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian adalah :

1. Memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh stresor rasa sakit dengan pemaparan bakteri *Escherichia coli* terhadap ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel neutrofil.
2. Dapat digunakan dalam aplikasi klinis khususnya kedokteran gigi dalam menangani pasien dengan kondisi stres terhadap respon tubuh melawan penyakit.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

2.1.1 Definisi stres

Stres adalah ketegangan fisik dan mental/emosiional karena tubuh kita berespon terhadap tuntutan, tekanan dan gangguan yang ada disekeliling kita (Yayasan Pendidikan Ani Idrus, 2004). Sedangkan menurut Dorland (1996), stres adalah penjumlahan reaksi-reaksi biologis terhadap berbagai stimulasi yang merugikan fisik, mental atau emosiional, internal atau eksternal yang cenderung mengganggu homeostasis organisme tersebut, seandainya reaksi-reaksi kompensasinya tidak adekuat atau tidak tepat, stres dapat menimbulkan gangguan. Stres merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam, jadi stres adalah respon terhadap stresor (Sulistiyani, 2003).

2.1.2 Pengaruh stres

Stres seringkali menyebabkan kelainan-kelainan di dalam rongga mulut (Priandini dan Subita, 1999). Stres merupakan salah satu obyek atau faktor penyebab yang dapat memicu timbulnya infeksi. Ancaman terhadap homeostasis ini meliputi gangguan sistem imun, sistem endokrin dan saraf. Pada sistem imun yang terganggu akan terjadi perubahan fungsi imun, khususnya pada respon imun seluler yang ikut berperan dalam proses penyembuhan (Seyle, 1982).

Tuck (2002) dan Bartleby (2001) dalam Suhardjo (2003) menyatakan bahwa stresor mampu menekan sistem syaraf pusat dan selanjutnya akan mengaktifkan respon asetilkolin yang merangsang *hipothalamus* untuk mensekresi *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH), selanjutnya CRH merangsang kelenjar hipofise untuk mensekresi *Adreno Corticotrophin Hormone* (ACTH) yang kemudian merangsang korteks adrenalis memproduksi hormon kortisol, sedangkan peningkatan hormon kortisol dalam darah akan meningkatkan reaksi tekanan dalam tubuh baik secara fisik

maupun psikologis. Stresor yang timbul akan menyebabkan berbagai gangguan terutama sistem ketahanan tubuh termasuk ketahanan mukosa rongga mulut sehingga terjadi gangguan respon imun. Respon imunologik terhadap stresor dapat mengakibatkan penurunan ketebalan epitel gingiva (Handayani, 2005). Sedangkan menurut Suryadhana (1997), dalam penelitiannya menyatakan bahwa sistem syaraf pusat sangat responsif terhadap stres dengan melepaskan kortikosteroid yang pada akhirnya mempengaruhi sistem imun yang mengakibatkan terjadinya penurunan jumlah neutrofil.

Notosoedirdjo (1998, 1999) dalam Putra (2003) menyatakan bahwa stres menyebabkan supresi sistem imun sehingga resiko untuk terserang penyakit infeksi dan autoimun menjadi lebih besar. Ini disebabkan karena glukokortikoid yang mensupresi aktivitas sistem imun disekresi dalam jumlah besar. Glukokortikoid juga menurunkan jumlah basofil dalam sirkulasi dan meningkatkan jumlah netrofil, trombosit dan sel darah merah (Ganong, 1998)

2.1.3 Stresor Rasa Sakit akibat Renjatan Listrik

2.1.3.1 Stresor Rasa Sakit

Stresor rasa sakit menyebabkan nyeri atau gangguan sensasi yang menyakitkan atau menekan perasaan dan renjatan listrik atau kejutan 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 (Gabriel, 1996). 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).

2.1.3.2 Renjatan Listrik

Reinjatan listrik akan menimbulkan stres pada individu, stresor dapat berpengaruh terhadap kesehatan melalui perubahan respon imun yaitu melalui “aksis otak-pituitari-adrenal”. Otak sangat berperan dalam patogenesis penyakit, hal ini terbukti bahwa stres dan depresi dapat menekan imunitas yang memudahkan penyakit

infeksi. Sependapat dengan itu Notosoedirdjo (1998) dalam Putra (2003) mengatakan bahwa otak mempunyai peran dalam supresi otak merupakan pengontrol produksi glukokortikoid, maka otak bertanggung jawab pada pengaruh supresi sistem ketahanan imunologis.

Penelitian Sumintarti (1997) menyatakan bahwa pemberian stres listrik dengan “*electric foot shock*” menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah. Sitokin diketahui berperan dalam sistem imunitas dengan merangsang atau menghambat proliferasi sel-sel imunokompeten dan homeostasis sel epitel karena memiliki peranan penting dalam pengaturan aktifitas proliferasi, diferensiasi, maturasi dan kematian sel. Disamping itu sitokin sangat penting sebagai regulator pada komunikasi seluler memegang peranan sentral pada perkembangan dan penyembuhan jaringan serta pada imunitas dan inflamasi namun demikian pada prinsipnya sitokin bekerja dengan cara sinergis atau antagonis dalam *upregulation* dan *downregulation* sel dengan kata lain mekanisme kerja sitokin pada respon imun mukosa adalah ditingkat molekuler (Djamal dan Winiati, 1999).

2.1.3.3 Jalur Stresor Renjatan Listrik

Renjatan listrik mempengaruhi fungsi sistem imun, selain dapat melalui jalur humoral dan cairan tubuh juga dapat melalui saraf. Cairan tubuh dapat meneruskan sinyal listrik karena cairan tubuh merupakan volume konduktor yang baik (Guyton, 1996). Terjadinya peningkatan kadar glukokortikoid dalam darah untuk menahan stres sebagian besar tidak diketahui. Sebagian besar rangsang stres yang meningkatkan sekresi ACTH juga mengaktifkan sistem saraf simpatis dan sebagian fungsi glukokortikoid dalam darah adalah untuk mempertahankan reaktifitas vaskular (Ganong, 1998).

2.2 Epitel

2.2.1 Jaringan Epitel

Jaringan epitel tersusun oleh sel-sel bersisi dan bersudut banyak (poligonal) yang berhimpit padat, dengan sedikit atau tanpa substansi interseluler diantaranya. Epitel dapat berupa membran (dibentuk oleh lembaran sel-sel dan meliputi permukaan luar atau membatasi permukaan dalam) dan dapat pula berupa kelenjar (berkembang dari permukaan epitel dengan cara tumbuh ke dalam jaringan ikat dibawahnya). Semua epitel terletak pada atau dikelilingi oleh suatu lamina basal yang memisahkan epitel dari jaringan ikat dibawahnya, dan dari pembuluh darah serta saraf yang terdapat di dalam jaringan ikat (Leeson, 1995).

2.2.2 Fungsi Epitel

Epitel berfungsi meliputi atau membatasi suatu permukaan, menghasilkan sekret dari epitel membran maupun dari kelenjar, dan turut serta dalam proses absorpsi (Leeson, 1995).

2.2.3 Adhesi Antar Sel Epitel

Pada epitel dan jaringan lainnya terdapat adhesi antarsel sehingga dapat menahan tenaga mekanik yang cukup besar yang dapat memisahkannya. Celah antarsel epitel sangat sempit sekitar 15 sampai 20 nm (150 sampai 200 Å), dan celah ini terisi glikokaliks dari sel-sel yang berdekatan. Sifat mengikat karbohidrat pada glikoprotein ini ikut membantu adhesi. Bahan ini juga mengandung kation (kalsium) yang penting juga untuk adhesi sel. Membran sel yang bersebelahan seringkali tidak berjalan sejajar tetapi berlekuk-lekuk saling mengunci satu sama lain (Leeson, 1995).

2.3 Gingiva

2.3.1 Definisi Gingiva

Gingiva adalah bagian mukosa rongga mulut yang mengelilingi gigi dan menutupi lingir (ridge) alveolar dan merupakan bagian dari apparatus pendukung gigi, periodonsium membentuk hubungan dengan gigi (Manson, 1993). Menurut Carranza (1990), gingiva merupakan bagian dari mukosa oral yang menutupi tulang

alveolar dan mengelilingi gigi. Gingiva merupakan jaringan ikat fibrosa yang ditutupi epitel, mengelilingi dan melekat pada gigi dan tulang alveolar dan meluas ke pertautan muko-gingival. Diaspek palatal, merupakan suatu sabuk jaringan yang menyatu dengan mukosa pengunyahan dari palatum keras (Harty, 1995).

Adapun fungsi dari gingiva yaitu untuk melindungi jaringan dibawah perlekatan gigi terhadap pengaruh lingkungan rongga mulut. Jaringan rongga mulut terpapar berbagai macam stimulus diantaranya temperatur, konsistensi makanan, senyawa kimiawi, asam basa, trauma, iritasi dan mikroorganismenya, disini tampak pentingnya ketahanan mukosa mulut dan efisiensi mekanis pertahanan gingiva (Manson, 1993).

2.3.2 Pembagian Gingiva

Menurut Manson (1993), gingiva dibagi menjadi dua daerah yaitu tepi gingiva (margin gingiva) dan perlekatan gingiva (*attached gingiva*).

1. Tepi gingiva (margin gingiva)

Tepi gingiva membentuk *cuff* selebar 1-2 mm di sekitar leher gigi dan dinding eksternal leher gingiva yang mempunyai kedalaman 0-2 mm. *Cuff* dapat dipisahkan dari gigi dengan menggunakan sonde tumpul. Antara gigi-geligi dan tepi gingiva terdapat papilla gingiva yang berbentuk konus, permukaan labialnya seringkali mempunyai *groove* yang disebut sebagai '*sluice way*'. Papilla mengisi ruang pada apical embrasy interdental sampai titik kontak dan bentuk fasial-lingualnya sesuai dengan kurvatur dari daerah pertautan semento-enamel untuk membentuk *col* interdental. Permukaan tepi gingiva umumnya halus berbeda dengan daerah perlekatan gingiva, yang dibatasi dengan *groove* gingiva bebas.

2. Perlekatan gingiva (*attached gingiva*)

Perlekatan gingiva (*attached gingiva*) atau 'mukosa fungsional' meluas dari *groove* gingiva bebas ke pertautan mukogingival dimana akan bertemu dengan mukosa alveolar. Daerah ini berwarna merah muda (coral pink). Permukaan perlekatan gingiva mempunyai *stippling* yang mirip seperti kulit jeruk. *Stippling* ini umumnya sangat bervariasi. *Stippling* terlihat lebih jelas pada permukaan fasial dan

sering tak terlihat pada usia lanjut. Penyebab *stippling* dewasa ini belum diketahui tetapi kelihatannya berhubungan dengan *retepeg* epitelial. Lebar perlekatan gingiva bervariasi dari 0-9 mm. Perlekatan gingiva biasanya terlebar pada regio insisivus (3-5 mm) dan tersempit pada daerah kaninus dan premolar bawah.

2.3.3 Epitel Gingiva

Epitel yang melapisi gingiva adalah epitel berlapis pipih dimana papilla jaringan penyambung dari *tunika proprianya* panjang dan langsing yang berdekatan satu sama lain (Bevelander dan Ramaley, 1979). Fungsi epitel adalah meliputi atau membatasi permukaan, menghasilkan sekret dari epitel membran maupun dari kelenjar dan turut serta dalam proses absorpsi. Sedangkan sel-sel epitel pada lapisan permukaan gingiva ada 3 jenis, yaitu :

a. *Keratinisasi*

Selnya berbentuk sisik keratin dan intinya menghilang, granula *keratohyalin* tampak pada permukaan bawahnya pada *stratum granulosum*.

b. *Parakeratinisasi*

Sel terletak pada lapisan superfisial, intinya ada walaupun piknotik tetapi menunjukkan tanda berkeratin. Lapisan granuler tidak ada.

c. *Non keratinisasi*

Selnya terletak pada lapisan permukaan, masih berinti dan tidak berkeratin.

Menurut Carranza (1990), epitel gingiva terbagi menjadi 3 daerah, yaitu :

1. *Oral Epithelium*

Epitel ini menutupi puncak gingiva dan permukaan luar dari gingiva margin dan permukaan *attached gingiva*. Epitel ini terdiri dari epitel *squamos* berlapis yang berkeratin atau parakeratin.

Epitel oral berlapis dan berkeratin terbagi menjadi 4 lapisan, yaitu :

a. *Stratum Basale*

Selnya berbentuk kuboid dan berukuran kecil, organel lebih banyak, dan mampu bermitosis.

b. *Stratum Spinosum*

Selnya berbentuk polihedral, ukuran relatif besar dan organelnya relatif lebih sedikit.

c. *Stratum Granulosum*

Selnya berbentuk datar, terletak lebih superfisial dan pada sitoplasmanya terdapat granula keratohyalin untuk pembuluh keratin.

d. *Stratum Corneum*

Merupakan lapisan yang paling superfisial, selnya berbentuk pipih dengan inti dan organel hilang. Pada lapisan ini selnya menjadi berkeratin.

2. *Oral Epithelium Sulcular*

Jenis epitel ini merupakan epitel berlapis pipih tidak berkeratin tanpa *retepeg*, lebih tipis dan melapisi gingiva sulkus meluas dari batas *coronal junctional epithelium* menuju ke puncak gingiva margin. *Sulcular epithelium* berfungsi sebagai membran semipermeable dimana untuk mencegah bakteri yang masuk ke gingiva dan cairan gingiva meresap masuk kedalam gingiva sulkus (Carranza, 1990).

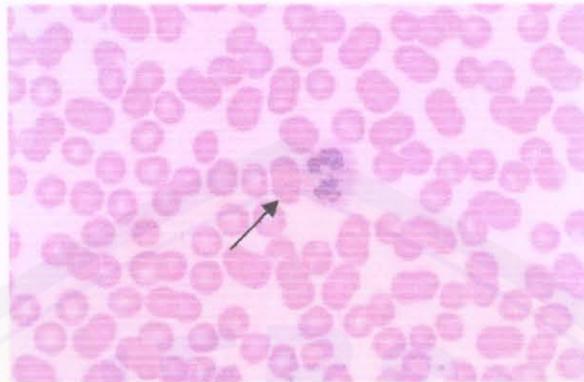
3. *Junctional Epithelium*

Epitel ini merupakan epitel berlapis pipih tidak berkeratin. Terdiri dari 3 atau 4 lapisan sel, jumlah lapisan meningkat menjadi 10-20 lapis seiring dengan bertambahnya usia, panjangnya berkisar antara 0,25-1,35 mm. Epitel ini melekat pada permukaan gigi oleh lamina basal. Pada lamina basal ini mengandung glikoprotein yang memegang peranan pada mekanisme perlekatan (adhesi), dimana perlekatan ini diperkuat oleh serabut gingiva yang dapat diperbarui melalui aktivitas mitotik sel-sel epitel yang beregenerasi bergerak ke permukaan gigi ke arah koronal dari sulkus gingiva tempat sel terlepas (Carranza, 1990).

2.4 Sel Neutrofil

2.4.1 Definisi Sel Neutrofil

Neutrofil adalah sel terminal dari diferensiasi mieloid dan tidak membelah. Neutrofil tumbuh dalam sumsum tulang dari sel leluhurnya ialah sel induk (*stem cell*), sesudah satu seri pembelahan, mengalami pendewasaan melalui berbagai fase ; myeloblas → promyelosit → metamyelosit → sel batang → PMN dewasa (Bellanti, 1993). Neutrofil atau PMN Leukosit, sangat penting perannya dalam mekanisme pertahanan terhadap infeksi bakterial. Dalam sistem pertahanan tubuh, neutrofil merupakan fagosit utama terhadap bakteri ekstraselular (Roeslan, 2002). Neutrofil ialah sel pertama yang tampak dalam ruang perivaskuler, biasanya disusul oleh monosit (setelah keluar dari lumen pembuluh darah, monosit disebut makrofag atau histiosit). Selain karena mobilitasnya yang tinggi dan jumlah yang banyak dalam sirkulasi darah, faktor yang mempengaruhi penampakan neutrofil dalam proses radang telah muncul pertama pada awal reaksi radang (Robbins dan Kumar, 1995). Pada keadaan normal terdapat 4.000- 11.000 sel darah putih per mikroliter darah manusia. Dari jumlah tersebut, jenis terbanyak adalah granulosit (leukosit polimorfonuklear) (Ganong, 1998). Neutrofil yang termasuk leukosit polimorfonuklear dalam keadaan segar berdiameter 7 sampai 9 μm . Dalam darah manusia, neutrofil berjumlah paling banyak dan merupakan 65% sampai 75% dari jumlah seluruh leukosit (Leeson, 1995). *Diff. count* leukosit dalam sulkus gingiva sehat pada manusia sebanyak 91.2% sampai 91.5% adalah PMNs (Neutrofil) dan 8.5% sampai 8.8% adalah mononuklear sel (Carranza, 1990). Neutrofil, juga disebut granulosit karena berisi enzim yang mengandung granul-granul, neutrofil membantu melindungi tubuh melawan infeksi bakteri dan jamur dan mencerna benda asing sisa-sisa peradangan. Ada 2 jenis neutrofil, yaitu neutrofil berbentuk pita (*imatur*, belum matang) dan neutrofil bersegmen (*matur*, matang) (Nadesul, 2004)



Gambar 1. sel neutrofil (Caceci, 2004)

2.4.2 Mekanisme Kerja Neutrofil.

2.4.2.1 Emigrasi

Menurut Jawetz, Ernest, dkk, (1991), setiap kerusakan pada jaringan, seperti yang terjadi setelah kuman menetap dan bermultiplikasi, menimbulkan suatu respons peradangan. Respon peradangan mulai dengan pelebaran arteriola dan kapiler lokal yang mengeluarkan plasma. Leukosit berinti polimorf dalam kapiler melekat pada dinding, kemudian berpindah keluar kapiler ke arah penyebab kerusakan.

2.4.2.2 Kemotaksis

Perpindahan ini dirangsang oleh zat-zat dalam eksudat peradangan (kemotaksis) (Jawetz, Ernest, dkk, 1991). Faktor-faktor kemotaksis dapat endogen berasal dari protein plasma (komplemen-komplemen) atau eksogen, misalnya produk-produk bakteri. Faktor-faktor kemotaksis yang paling penting untuk neutrofil adalah 1). *C5a* komponen system komplemen, 2). *Leukotrin B4*, hasil metabolisme asam arakidonat dan 3). *Produk-produk kuman*. Faktor kemotaksis yang berasal dari bakteri ialah peptida dengan asam amino terminal N-formin-metionin (Robbins dan Kumar, 1995).

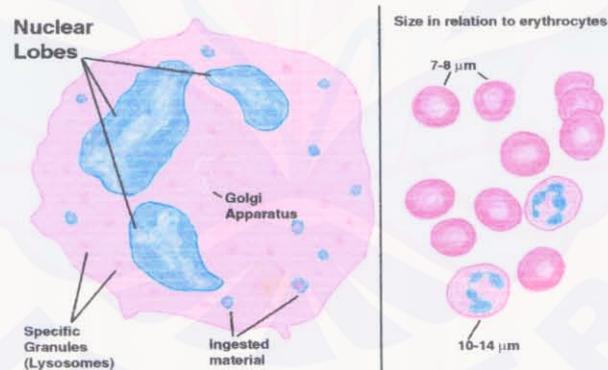
2.4.2.3 Fagositosis

Fagositosis dapat terjadi tanpa antibodi serum, terutama bila dibantu oleh susunan jaringan. Fagositosis menjadi lebih efisien dengan adanya antibodi (opsonin) yang membungkus permukaan kuman. Opsonisasi dapat terjadi melalui 3 mekanisme

: 1). Antibodi sendiri dapat berlaku sebagai opsonin, 2) Antibodi ditambah antigen dapat mengaktifkan komplemen melalui jalan klasik untuk menghasilkan opsonin, 3). Opsonin dapat dihasilkan oleh suatu sistem yang tidak tahan panas dimana immunoglobulin atau faktor lain mengaktifkan C3 melalui jalan alternatif (Jawetz, Enest, dkk, 1991).

Setelah bakteri yang mengalami opsonisasi melekat pada permukaan, sel fagosit sebagian besar akan meliputi partikel, berdampak pembentukan kantung yang dalam. Partikel ini sekarang terletak dalam vesikel sitoplasma yang masih terikat pada selaput sel, disebut fagosom. Pada waktu terbentuk fagosom, granula-granula sitoplasma neutrofil menyatu dengan fagosom dan melepaskan isi ke dalamnya. Dua macam granula sitoplasma neutrofil ialah :

1). *Granula azurofil (primer)* yang merupakan lisosom yang mengandung hidrolase asam, protease netral, protein berkation, mieloperoxidase dan lisosim, serta 2). *Granula khas (sekunder)* yang mengandung lisosim dan laktoferin, tetapi tanpa hidrolase atau peroksidase (Robbins dan Kumar, 1995)



Gambar 2. morfologi neutrofil dengan gambaran isinya
(Gambar Dr. Samir El-Shafey dalam Caceci, 2004)

2.4.3 Neutrofil Tikus Putih

Neutrofil polimorfonuklear pada tikus berdiameter 11-12 μm dengan satu inti yang terdiri 2-5 lobus yang berbentuk sosis (biasanya 3 lobus). Satu sama lain saling dikaitkan dengan benang-benang halus kromatin, dimana nukleusnya tidak begitu

tampak jelas. Granula pada sitoplasma berbintik yang khas meskipun tidak sejelas dengan granula manusia. Disebutkan bahwa jumlah rata-rata neutrofil secara normal pada tikus jantan yang berusia 8-24 minggu adalah antara 15,7-19,4. Pada tikus betina yang berusia 8-14 minggu adalah antara 19,3-23,1 (Barker, 1979).

2.5 Bakteri *Escherichia coli*

2.5.1 Definisi *Escherichia coli*

Bakteri ini ditemukan dalam usus besar manusia oleh seorang mikrobiologis Jerman yang bernama Dr Theodore Escherich pada tahun 1885. Untuk menghormati penemunya, bakteri yang awalnya bernama *Bacterium coli* ini diubah namanya menjadi *Escherichia coli* (www.about-E.coli.com). Termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, genus *Escherichia*, species *Escherichia coli* (Karsinah, Suharto dan Mardiasuti, 1993).

Bakteri ini merupakan bagian flora normal dan kadang-kadang menyebabkan penyakit (Jawetz, 1996). Setengah dari bakteri ini mempunyai factor virulen berbahaya yang menyebabkan infeksi sistem gastro-usus, pundi kencing dan juga bagian tubuh lain apabila keluar dari system usus. Apabila berada dalam perut, *Escherichia coli* membantu menghapuskan bakteri lain, membantu proses pencernaan dan menghasilkan sejumlah kecil vitamin B12 dan K (Yong, 2002).

2.5.2 Morfologi Bakteri

Morfologi kuman berbentuk batang pendek (kokobasil) , negatif gram, ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm . sebagian besar gerak positif dan beberapa *strain* mempunyai kapsul (Karsinah, Suharto dan Mardiasuti, 1993). Bakteri ini merupakan bacterium berbentuk rod, yang bergerak menggunakan juluran flagella panjang (Yong, 2002).

Escherichia coli tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium Mikrobiologi, pada media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enteric, sebagian besar *strain Escherichia coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *Escherichia coli* bersifat mikroaerofilik. Beberapa *strain* bila ditanam pada

agar darah menunjukkan hemolisis tipe beta (Karsinah, Suharto dan Mardiasuti, 1993). Sedangkan menurut Jawetz (1996), biakan pada perbenihan “differensial” yang mengandung zat warna khusus dan karbohidrat (misalnya *eosin-metilen blue* (EMB), perbenihan MacConkey, atau perbenihan deoksikolat) dapat digunakan untuk membedakan koloni peragi laktosa (berwarna) dari koloni yang tidak meragikan laktosa (tak berpigmen). Adapun warna dari *Escherichia coli* pada perbenihan differensial adalah mengkilat seperti logam, bergerak, koloni rata, dan tidak liat.



Gambar 3. Kiri : sel *Escherichia coli*. Kanan: koloni *Escherichia coli* pada EMB Agar. (www.Todar's Online Textbook of Bacteriology.com)

2.5.3 Struktur Antigen

Escherichia coli mempunyai antigen O, H dan K. Pada saat ini telah ditemukan 150 tipe antigen O, 90 tipe antigen K dan 50 tipe antigen H. Antigen K dibedakan lagi berdasarkan sifat-sifat fisiknya menjadi 3 tipe yaitu L, A dan B (Karsinah, Suharto dan Mardiasuti, 1993).

2.5.4 Penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli*

1. Infeksi saluran kemih mulai dari sistitis sampai pielonefritis. *Escherichia coli* merupakan penyebab dari 85% kasus (Karsinah, Suharto dan Mardiasuti, 1993).
2. Meningitis. *Escherichia coli* merupakan penyebab pada sekitar 40% kasus meningitis neonatal dan kira-kira 75% *Escherichia coli* dari kasus meningitis

ini mempunyai antigen K1. Antigen ini bereaksi silang dengan polisakarida sampai golongan B dari *N meningitides*. Mekanisme virulensi yang berhubungan dengan antigen K1 tidak diketahui (Jawetz, 1996).

3. Pneumonia. Di rumah sakit *Escherichia coli* menyebabkan \pm 50% dari *Primary Nosocomial Pneumonia* (Karsinah, Suharto dan Mardiasuti, 1993).
4. Sepsis. Bila pertahanan inang normal tidak mencukupi, *Escherichia coli* dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi yang baru lahir dapat sangat rentan terhadap sepsis *Escherichia coli* karena tidak memiliki antibody IgM. Sepsis dapat terjadi juga karena infeksi saluran kemih (Jawetz, 1996).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis, Waktu dan Tempat Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post only control group design* (Notoatmodjo, 2002).

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai Juli 2005.

3.1.3 Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Biomedik bagian Fisiologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.2 Identifikasi Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

- Stresor rasa sakit
- bakteri *Escherichia coli*

3.2.2 Variabel Terikat

- ketebalan epitel gingiva tikus
- jumlah sel *neutrofil* tikus

3.2.3 Variabel Terkendali

- makanan standart tikus *wistar* dan minuman tikus *wistar*
- cara pemeliharaan tikus
- prosedur penelitian
- kriteria sample
- dosis dan voltage pemberian *Electrical Foot Shock*.
- konsentrasi bakteri *Escherichia coli*
- cara pemberian bakteri.

3.3 Definisi Operasional Penelitian

3.3.1 Stresor Rasa Sakit

Stresor rasa sakit diperoleh dari renjatan listrik berupa alat "*Electrical Foot Shock*". Perlakuan stresor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui lempeng yang terbuat dari kuningan di dasar kandang perlakuan. Kandang perlakuan berukuran 41 x 32 x 11cm terbuat dari bak plastik, bagian atas bertutup kaca mika, pada alas kandang dipasang lempeng yang terbuat dari kuningan untuk mengalirkan arus listrik. Arus listrik tegangan rendah pada kuat arus 5-30 mAmpere (rata-rata 25 mAmpere), pada tegangan listrik 220 Volt, dengan frekuensi 60 Hz.

3.3.2 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain diluar usus.

3.3.3 Ketebalan Epitel

Merupakan ketebalan *oral epithelium* dari *attached gingiva* yang *berstippling* dari gigi Molar RA sebelah bukal tikus putih *wistar* yang terjadi mulai tepi atas *stratum korneum* sampai *stratum basalis* yang diukur dengan menggunakan *micrometer grade*.

3.3.4 Gingiva

Merupakan *attached gingiva* yaitu bagian dari mukosa mulut tikus putih *wistar* yang meluas dari groove gingiva bebas ke pertautan mukogingival dimana akan bertemu dengan mukosa alveolar, yang diambil pada regio bukal posterior kanan dan pembedahan jaringannya arah *okluso-apikal*.

3.3.5 Sel Neutrofil

Neutrofil yaitu leukosit granular yang memiliki nukleus dengan tiga hingga lima lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus.

3.4 Populasi, Kriteria dan Besar Sampel

3.4.1 Populasi Sampel

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

3.4.2 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus putih dengan persyaratan sebagai berikut :

1. Tikus putih *wistar* berjenis kelamin jantan.
2. Berat 200-250 gram
3. Usia 3-4 bulan
4. Tikus dalam keadaan sehat secara klinis

3.4.3 Besar Sampel

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

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

Keterangan :

n : besar sampel minimal

Z α : 1,96

Z β : 0,85

σD^2 : diasumsikan $\sigma D^2 = \delta^2$

α : tingkat signifikan (0,05)

β : 1-p, $\beta = 20\% = 0,2$

p : keterpercayaan penelitian

α, D, δ : merupakan simpangan baku dari populasi

Dari rumus diatas didapatkan besar sampel minimal yang digunakan dalam penelitian 7.896 yang dibulatkan menjadi 8 untuk masing-masing kelompok. Perhitungan selengkapnya pada *lampiran 1*. (Stell dan Torrie, 1995)

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

1. Kandang yang terbuat dari ember plastik persegi empat berukuran 41 x 32 x 11 cm dengan tutup dari anyaman kasa.
2. Alat *Electrical Foot Shock*.
3. Timbangan untuk menimbang tikus.
4. Sarung tangan.
5. Gunting bedah.
6. Scalpel.
7. Peralatan untuk membuat preparat.
8. Mikroskop.
9. Glass slab.
10. Disposable syringe
11. Pipet
12. Peralatan untuk mempersiapkan bakteri

3.5.2 Bahan

1. Tikus putih *wistar*
2. Bakteri *Escherichia coli*
3. Makanan standar untuk tikus putih *wistar*
4. Minuman untuk tikus putih *wistar*
5. Jaringan gingiva tikus
6. Bahan-bahan pembuatan sediaan dan preparat
7. Bahan-bahan perbenihan bakteri
8. Eter

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap persiapan pada hewan coba

1. Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di Laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember selama satu minggu.

2. Tikus diberi makanan standart dan air minum setiap hari secara *ad libitum* (sesukanya), komposisi makanan standart tikus pada *lampiran 2*.
3. Tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak, jumlah tikus per kelompok sesuai dengan besar sampel.

3.6.2 Tahap persiapan bakteri *Escherichia coli*

Menurut Laine dkk (2000), persiapan dan perhitungan konsentrasi bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam semua penelitian yang menggunakan tikus adalah sebagai berikut :

1. bakteri *Escherichia coli* disimpan dalam air dengan larutan Glycerol 20% pada suhu -70° C.
2. bakteri dikultur dalam *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) selama 18 sampai 24 jam.
3. tiga koloni dari bakteri dicampur dalam 10 ml *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dan disentrifuse (240 rpm) selama 1 jam pada suhu 37° C.
4. volume campuran ditambah dengan BHIB sampai 200 ml, kemudian campuran tersebut disentrifuse (240 rpm) selama 2 jam 15 menit pada suhu 37° C kemudian disentrifuse selama 10 menit pada $3000 \times g$ dan diperoleh endapan bakteri *Escherichia coli*.
5. pencucian dilakukan dengan cara mencampur endapan bakteri dalam 10 ml saline steril kemudian disentrifuse selama 10 menit pada $3000 \times g$ dengan suhu 4° C. Pencucian ini dilakukan sampai tiga kali.
6. setelah diperoleh bakteri *Escherichia coli* murni kemudian dilakukan perhitungan dengan *Spektrofotometer* dalam panjang gelombang 650 nm.
7. bakteri dicampur dengan saline steril dengan perbandingan 1 : 10.
8. volume yang digunakan pada seluruh penelitian adalah sebanyak 0,33 ml, yang mengandung bakteri *Escherichia coli* sebanyak $1,6 \times 10^7$ CFU.

3.6.3 Tahap perlakuan pada hewan coba

1. Hewan coba tikus *wistar* jantan dengan berat 200-250 gram sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 3 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor dengan perlakuan sebagai berikut :

- a. Kelompok I (kontrol negatif)

Tikus *wistar* tanpa pemaparan stresor maupun bakteri, dikorbankan pada hari ketujuh dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan sampel epitel gingiva untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan, kemudian dilakukan penghitungan ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel neutrofil.

- b. Kelompok II (kontrol positif)

Tikus *wistar* yang hanya diberi paparan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi $1,6 \times 10^7$ sebanyak 0,33 ml secara intraperitoneal, setiap hari selama tujuh hari. Pada hari ketujuh, 60 menit setelah pemaparan bakteri *Escherichia coli*, tikus dikorbankan dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan sampel epitel gingiva untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan, kemudian dilakukan penghitungan ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel neutrofil.

- c. Kelompok III (perlakuan)

Tikus *wistar* yang diberi paparan stresor *electrical foot shock*, yang kemudian dengan interval waktu 30 menit setelah stresor terakhir dipapar bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi $1,6 \times 10^7$ sebanyak 0,33 ml secara intraperitoneal, setiap hari selama tujuh hari. Pada hari ketujuh, 60 menit setelah pemaparan bakteri *Escherichia coli*, tikus dikorbankan dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan sampel epitel gingiva untuk pembuatan preparat histologi dan pengecatan, kemudian dilakukan penghitungan ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel neutrofil.

2. Pemberian renjatan listrik pada kelompok perlakuan dengan *electrical foot shock* kuat arus 5-30 mAmpere (rata-rata 25 mAmpere), pada tegangan listrik 220 Volt dengan frekuensi 60 Hz, berpedoman pada penelitian Sumintarti (1997) :

| | |
|-----------|------------------------|
| Hari ke-1 | : 4 renjatan – 2 sesi |
| Hari ke-2 | : 8 renjatan – 2 sesi |
| Hari ke-3 | : 10 renjatan – 3 sesi |
| Hari ke-4 | : 12 renjatan – 3 sesi |
| Hari ke-5 | : 14 renjatan – 4 sesi |
| Hari ke-6 | : 16 renjatan – 4 sesi |
| Hari ke-7 | : 18 renjatan – 5 sesi |

Lama 1 kali renjatan = 1 kejut, diberikan interval 4 menit untuk tiap sesi. Hari pertama diberikan 4 renjatan – 2 sesi, hari kedua diberikan 8 renjatan – 2 sesi bukannya 6 renjatan – 2 sesi, karena peningkatan sebanyak 2 renjatan x 2 sesi untuk hari kedua dianggap terlalu kecil. Hari ketiga dan seterusnya, peningkatan cukup besar dimaksudkan agar stresor tidak dapat atau tidak mudah diadaptasi (Asnar, 2001). Dalam penelitian Sumintarti (1997), menyatakan bahwa peningkatan kortisol mencapai puncak pada hari ke-7 dan mulai terjadi penurunan setelah hari ke-14 dan diduga selama peningkatan tersebut terjadi penurunan proliferasi sel epitel yang menyebabkan penurunan ketebalan epitel gingiva.

3.6.4 Tahap Preparasi Jaringan Gingiva

Pada hari ke-7, 60 menit setelah pemaparan bakteri *Escherichia coli*, tikus *wistar* dikorbkan dengan inhalasi *eter chloride* dan dilakukan pengambilan gingiva gigi Molar RA sebelah bukal, karena pada umumnya kadar kortisol darah mencapai puncak 30-60 menit setelah stresor (Guyton, 1996).

3.6.5 Tahap Pembuatan Sediaan Jaringan Gingiva

Tahap pembuatan sediaan jaringan gingiva pada lampiran 3.

3.6.6 Tahap Pengecatan Hematoxylin Eosin (HE)

Tahap pengecatan sediaan dengan *Hematoxylin Eosin* (HE) pada lampiran 4.

3.7 Tahap pengamatan

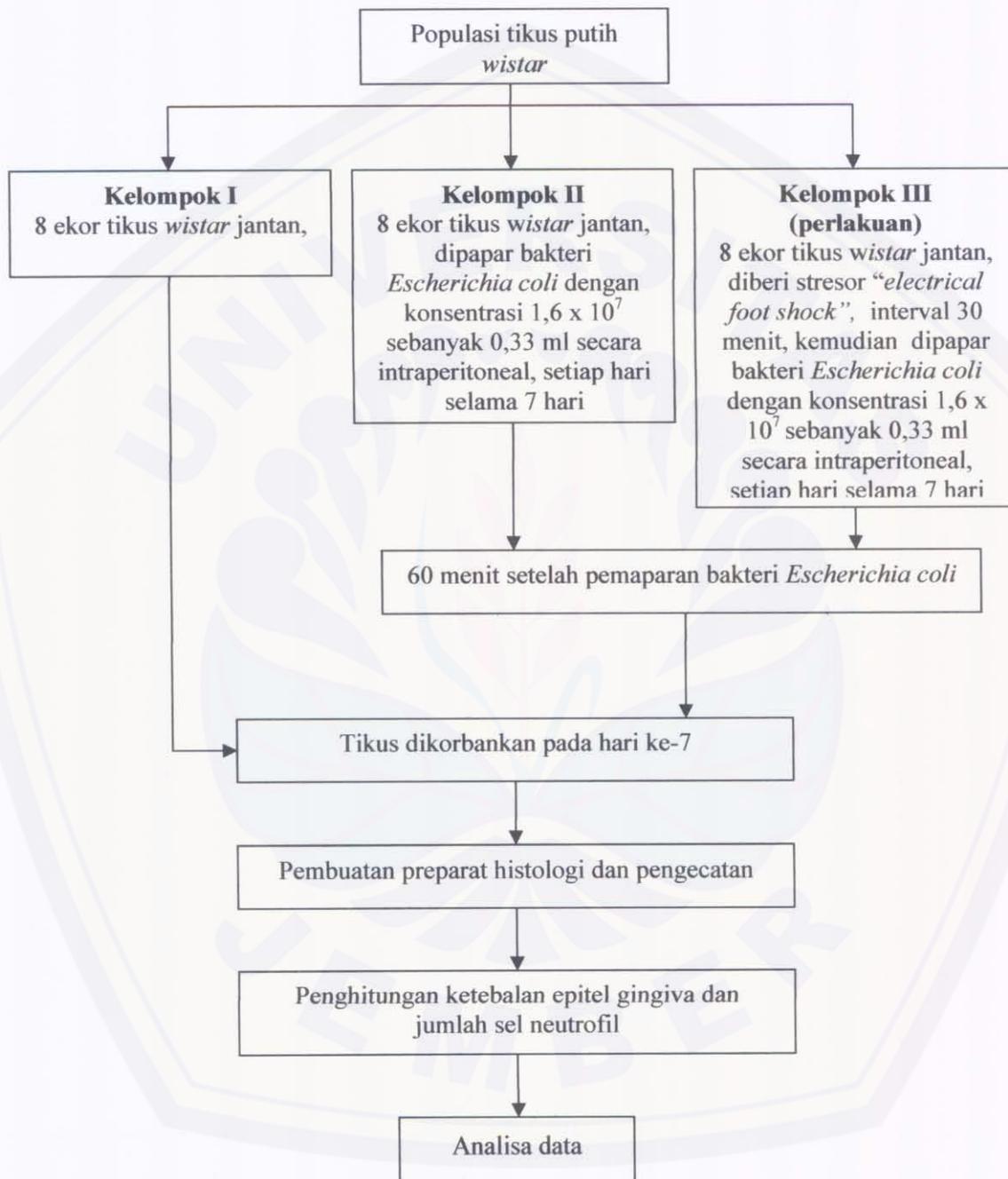
Pengamatan pada sediaan histologis dari ketiga kelompok tikus tersebut menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 400x kemudian difoto. Masing-masing foto sampel sediaan histologis dilakukan pengamatan dan pengukuran ketebalan epitel gingiva gigi molar RA sebelah bukal, mulai dari tepi atas *stratum korneum* sampai *stratum basalis* menggunakan *micrometer grade*. Penghitungan jumlah sel PMN neutrofil dihitung memakai pembesaran 1000x dengan menggunakan *emerrsen oil xylol tissue lenissa* yang diteteskan diatas sediaan kemudian dihitung jumlah neutrofil pada tiga lapangan pandang. Untuk menghindari neutrofil yang sudah terhitung akan terhitung lagi dilakukan penggeseran lapangan pandang kekanan sejauh 2-3 lapangan pandang.

3.8 Analisa Data

Berdasarkan pengukuran ketebalan epitel dan perhitungan jumlah neutrofil dari ketiga kelompok sampel diatas diperoleh data dengan skala rasio, kemudian dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levene's test*, selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan metode statistik parametrik *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

3.9 Alur penelitian

Alur penelitian ini digambarkan melalui bagan berikut ini :



BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA

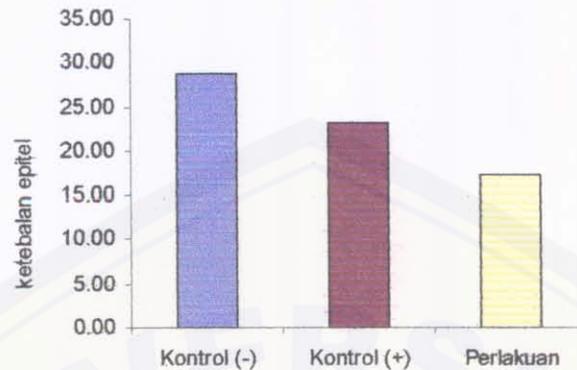
4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh stresor rasa sakit terhadap ketebalan epitel gingiva dan jumlah sel neutrofil pada tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli* diperoleh data-data yang ditunjukkan dalam tabel berikut ini :

Tabel 1. Rata-rata Ketebalan Epitel Gingiva pada Kelompok Kontrol Negatif, Kontrol Positif, dan Perlakuan (dalam mm)

| sampel | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
|-----------|-------------|-------------|-----------|
| 1 | 28.33 | 24.33 | 17.00 |
| 2 | 29.67 | 23.67 | 17.67 |
| 3 | 25.67 | 24.00 | 18.00 |
| 4 | 30.33 | 24.67 | 19.67 |
| 5 | 28.33 | 21.67 | 15.00 |
| 6 | 32.67 | 23.33 | 17.33 |
| 7 | 27.67 | 23.33 | 10.67 |
| 8 | 30.33 | 20.33 | 19.33 |
| 9 | 27.33 | 23.00 | 18.67 |
| 10 | 27.33 | 22.00 | 18.33 |
| Rata-rata | 28.77 | 23.03 | 17.17 |
| sd | 2.01 | 1.34 | 2.63 |

Berikut ini adalah grafik penurunan ketebalan epitel gingiva berdasar rata-rata hasil perhitungan tabel 1.



Gambar 4. Grafik Perbandingan Penurunan Ketebalan Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif dan Kelompok Perlakuan.

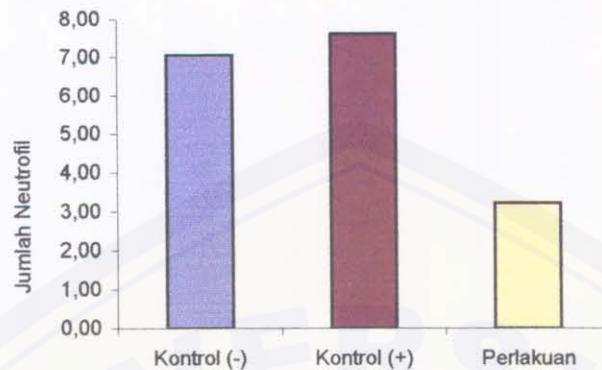
Berdasarkan data dari tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata ketebalan epitel gingiva pada kelompok kontrol negatif sebesar 28,77 mm, kelompok kontrol positif terjadi penurunan ketebalan sebesar 5,73 mm dan pada kelompok perlakuan juga mengalami penurunan sebesar 11,59 mm. Sedangkan pada gambar 4 menunjukkan bahwa terjadi penurunan ketebalan epitel gingiva yaitu, pada kelompok kontrol negatif lebih tinggi dibanding kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Sedangkan kelompok kontrol positif lebih tinggi daripada kelompok perlakuan. Jadi kelompok perlakuan mempunyai ketebalan epitel yang paling tipis dibandingkan dengan kedua kelompok kontrol. Gambar epitel gingiva kelompok kontrol negatif, positif dan perlakuan dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 2. Rata-rata Jumlah Sel Neutrofil pada Kelompok Kontrol Negatif, Kontrol Positif dan Kelompok Perlakuan.

| sampel | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
|-----------|-------------|-------------|-----------|
| 1 | 6.89 | 7.00 | 3.11 |
| 2 | 6.44 | 7.67 | 3.33 |
| 3 | 7.56 | 7.55 | 3.67 |
| 4 | 7.23 | 7.77 | 3.22 |
| 5 | 7.23 | 7.22 | 3.45 |
| 6 | 6.89 | 7.44 | 3.11 |
| 7 | 7.00 | 8.00 | 2.89 |
| 8 | 7.55 | 7.78 | 3.22 |
| 9 | 6.67 | 7.89 | 3.00 |
| 10 | 7.11 | 7.77 | 3.33 |
| Rata-rata | 7.06 | 7.61 | 3.23 |
| sd | 0.36 | 0.31 | 0.23 |

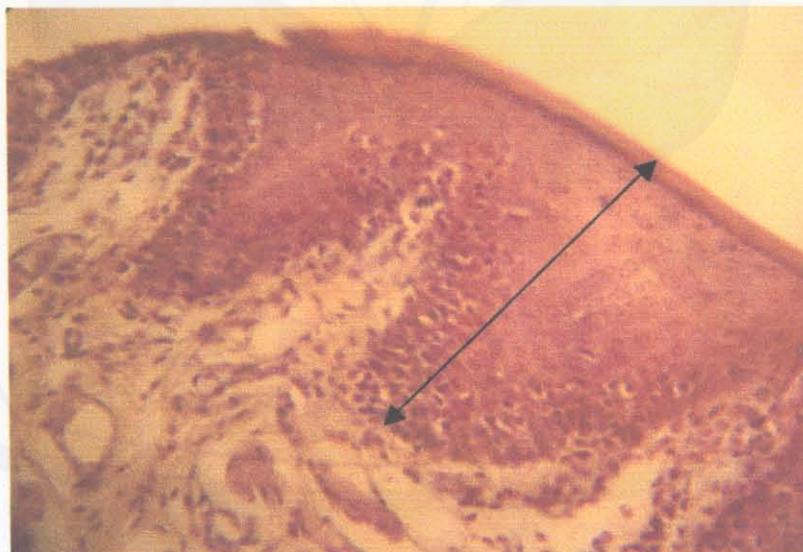
Dari data yang didapat pada tabel 2 dapat dilihat rata-rata jumlah sel neutrofil pada kelompok kontrol negatif sebesar 7,06, kelompok kontrol positif sebesar 7,61 (terjadi peningkatan jumlah neutrofil sebanyak 0,55) sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 3,23 yaitu terjadi penurunan sebesar 3,82 terhadap kontrol negatif dan sebesar 4,37 terhadap kontrol positif. Hal ini juga dapat dilihat melalui grafik batang pada gambar 5, yaitu jumlah sel neutrofil pada kelompok kontrol negatif lebih rendah daripada kelompok kontrol positif namun lebih tinggi daripada kelompok perlakuan. Gambar sel neutrofil pada jaringan gingiva kelompok kontrol negatif, positif dan perlakuan dapat dilihat pada lampiran 6

Berikut ini adalah grafik jumlah sel neutrofil berdasar rata-rata hasil perhitungan pada tabel 2.

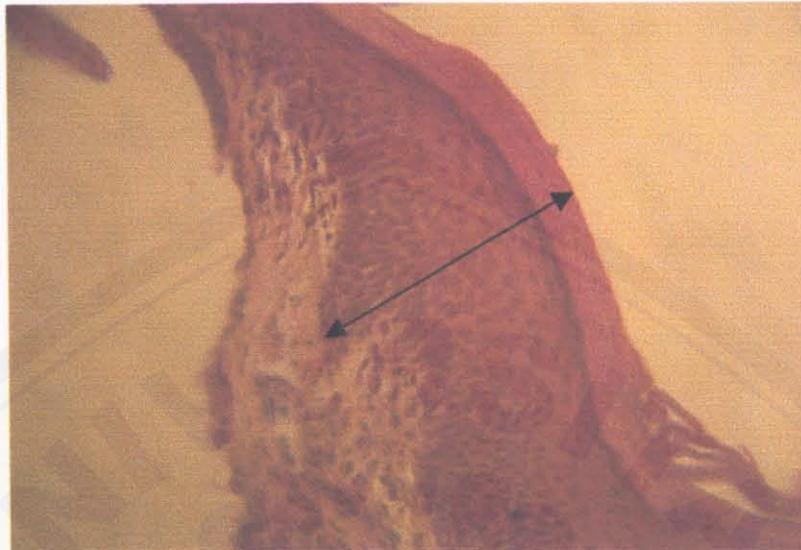


Gambar 5. Grafik Perbandingan Jumlah Sel Neutrofil Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif dan Kelompok Perlakuan.

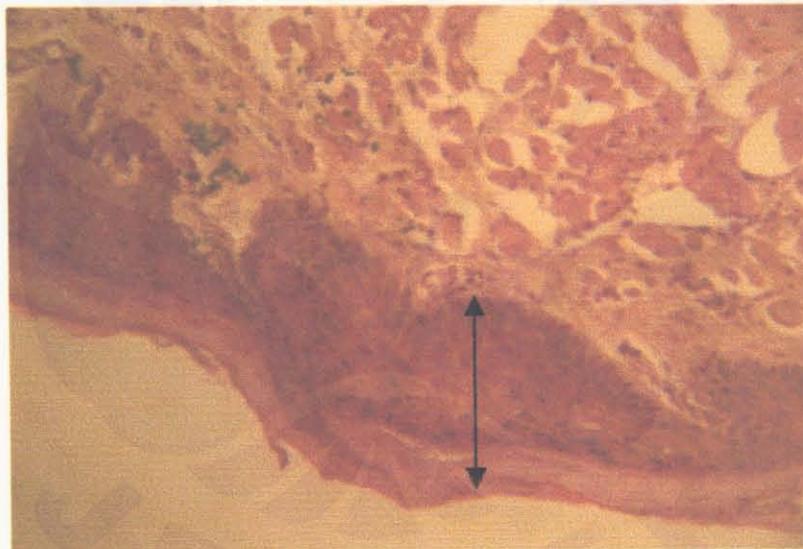
Hasil pengamatan ketebalan epitel gingiva dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 400x dan pengukuran ketebalan epitel menggunakan *micrometer grade*. Pada gambar tersebut tampak ketebalan epitel mulai dari *stratum corneum* sampai *stratum basale* epitel gingiva kelompok kontrol negatif, kelompok positif dan kelompok perlakuan.



Gambar 6. Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif dengan Ketebalan 30,33 mm

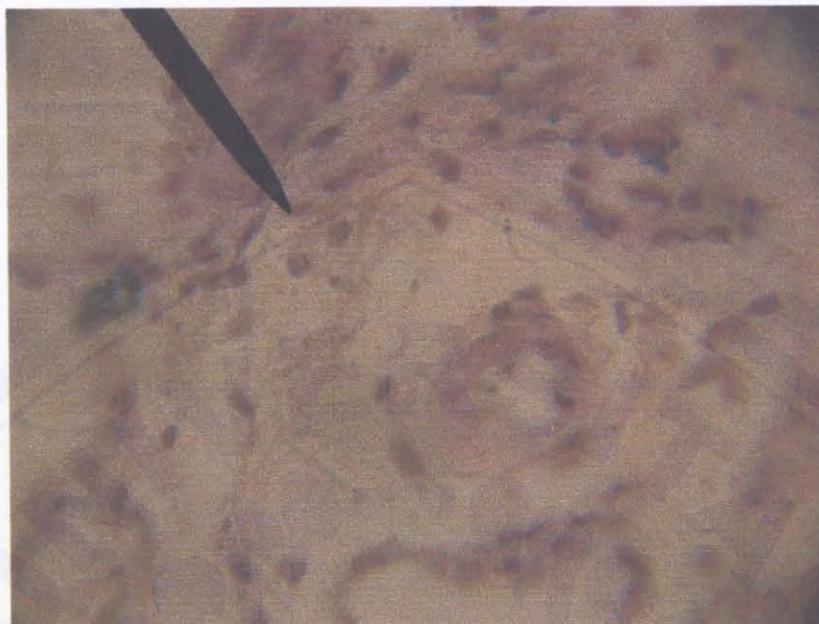


Gambar 7. Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Positif dengan Ketebalan 23,33 mm

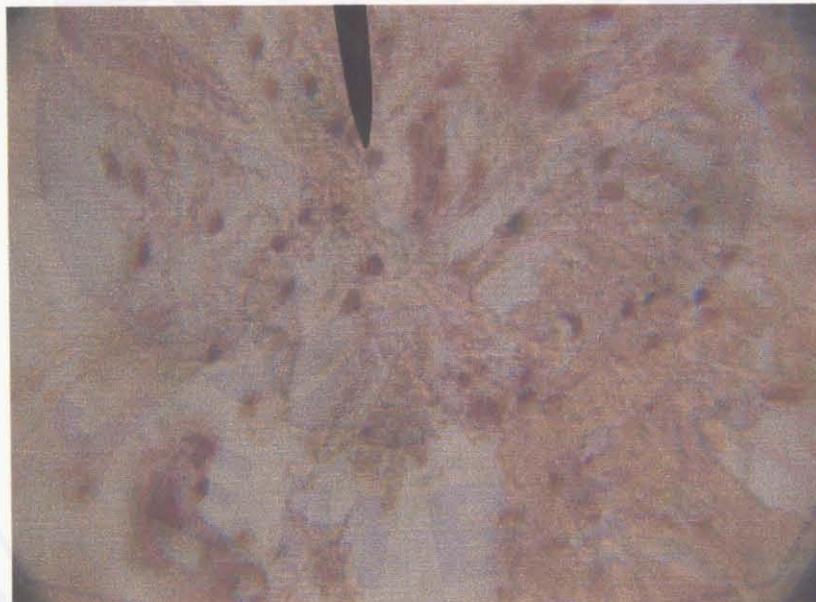


Gambar 8. Epitel Gingiva Kelompok Perlakuan dengan Ketebalan 18,33 mm

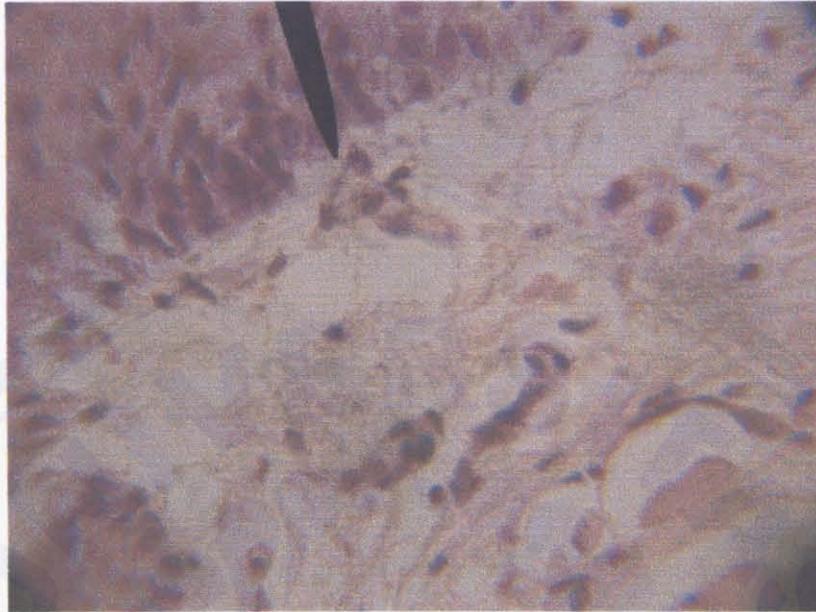
Hasil pengamatan dan perhitungan sel neutrofil pada jaringan gingiva dengan menggunakan mikroskop binokuler, memakai pembesaran 1000 x dengan menggunakan *emmersen tissue lennisa*.



Gambar 9. Sel Neutrofil Pada Kelompok Kontrol Negatif



Gambar 10. Sel Neutrofil Pada Kelompok Kontrol Positif



Gambar 11. Sel Neutrofil Pada Kelompok Perlakuan

4.2 Analisa Data

Data-data hasil penelitian tersebut diuji statistik dengan menggunakan uji parametrik yaitu uji *One Way Anova* program SPSS dengan tingkat kemaknaan 95% ($P > 0,05$) untuk mengetahui apakah ada pengaruh stresor rasa sakit terhadap ketebalan epitel dan jumlah neutrofil pada tiap-tiap kelompok perlakuan. Sedangkan interaksi antara tiap-tiap perlakuan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD*. Untuk memenuhi uji parametrik maka analisis didahului dengan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas data menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* seperti yang terlihat pada tabel 3 dan 4 untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas data menggunakan *Levene's test* seperti yang ditunjukkan pada tabel 5 dan 6.

Tabel 3. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dari rata-rata ketebalan epitel pada tiap- tiap kelompok

| One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test | | | | |
|------------------------------------|----------------|-------------|-------------|-----------|
| | | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
| N | | 10 | 10 | 10 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 28.7660 | 23.0330 | 17.1670 |
| | Std. Deviation | 2.0067 | 1.3380 | 2.6345 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .186 | .190 | .275 |
| | Positive | .186 | .111 | .171 |
| | Negative | -.137 | -.190 | -.275 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .588 | .601 | .869 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .880 | .863 | .437 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tabel 4. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dari rata-rata jumlah neutrofil pada tiap- tiap kelompok

| One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test | | | | |
|------------------------------------|----------------|-------------|-------------|-----------|
| | | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
| N | | 10 | 10 | 10 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 7.0570 | 7.6090 | 3.2330 |
| | Std. Deviation | .3572 | .3111 | .2259 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .120 | .198 | .134 |
| | Positive | .114 | .104 | .134 |
| | Negative | -.120 | -.198 | -.093 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .380 | .625 | .423 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .999 | .830 | .994 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Dari kedua tabel diatas menunjukkan bahwa nilai *Kolmogorov-Smirnov* ketebalan epitel pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan masing-masing adalah 0,58; 0,60; 0,86, sedangkan pada jumlah neutrofil ditunjukkan bahwa nilai *Kolmogorov-Smirnov* kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan masing-masing adalah 0,38; 0,62; 0,42. Semua data diatas menunjukkan bahwa nilai *Kolmogorov-Smirnov* > 0,05 yang berarti bahwa semua data diatas berdistribusi normal.

Tabel 5. Hasil uji homogenitas *Levene's test* dari rata-rata ketebalan epitel pada tiap-tiap kelompok

| Test of Homogeneity of Variances | | | |
|----------------------------------|-----|-----|------|
| Ketebalan Epitel | | | |
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| .840 | 2 | 27 | .443 |

Tabel 6. Hasil uji homogenitas *Levene's test* dari rata-rata jumlah neutrofil pada tiap-tiap kelompok

| Test of Homogeneity of Variances | | | |
|----------------------------------|-----|-----|------|
| Jumlah Neutrofil | | | |
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| 1.044 | 2 | 27 | .366 |

Keterangan :

Levene statistic : Taraf kepercayaan

df1

: Derajat bebas kelompok perlakuan

df2

: Standart error

Sig

: Probabilitas

Berdasarkan tabel 5 dan tabel 6 dapat dilihat probabilitas ketebalan epitel dan jumlah neutrofil $> 0,05$ dengan demikian data adalah homogen, yang kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

Tabel 7. Hasil uji *One Way Anova* dari rata-rata ketebalan epitel gingiva

| ANOVA | | | | | |
|------------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Ketebalan Epitel | | | | | |
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 672.713 | 2 | 336.357 | 79.097 | .000 |
| Within Groups | 114.816 | 27 | 4.252 | | |
| Total | 787.530 | 29 | | | |

Tabel 8. Hasil uji *One Way Anova* dari rata-rata jumlah neutrofil

| ANOVA | | | | | |
|------------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Jumlah Neutrofil | | | | | |
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 113.590 | 2 | 56.795 | 618.705 | .000 |
| Within Groups | 2.479 | 27 | 9.180E-02 | | |
| Total | 116.069 | 29 | | | |

Hasil analisa data dengan *One Way Anova* pada tabel 7 memperlihatkan bahwa ketebalan epitel gingiva pada masing-masing perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna, terlihat bahwa nilai F hitung 79.097 dengan probabilitas 0.000 ($P < 0,05$), demikian juga pada jumlah neutrofil terlihat bahwa nilai F hitung 618.705 dengan probabilitas 0.000 ($P < 0,05$) artinya ada perbedaan bermakna yang sangat nyata. Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan mana saja yang signifikan (berbeda) dilakukan uji perbandingan antar perlakuan dengan uji statistik *Tukey HSD* dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0,05$).

Tabel 9. Hasil uji *Tukey HSD* dari ketebalan epitel gingiva

| Multiple Comparisons | | | | | | |
|--------------------------------------|---------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| Dependent Variable: Ketebalan Epitel | | | | | | |
| Tukey HSD | | | | | | |
| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kontrol (-) | kontrol (+) | 5.7330* | .9222 | .000 | 3.4464 | 8.0196 |
| | perlakuan | 11.5990* | .9222 | .000 | 9.3124 | 13.8856 |
| kontrol (+) | kontrol (-) | -5.7330* | .9222 | .000 | -8.0196 | -3.4464 |
| | perlakuan | 5.8660* | .9222 | .000 | 3.5794 | 8.1526 |
| perlakuan | kontrol (-) | -11.5990* | .9222 | .000 | -13.8856 | -9.3124 |
| | kontrol (+) | -5.8660* | .9222 | .000 | -8.1526 | -3.5794 |

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

Tabel 10. Hasil uji Tukey HSD dari jumlah neutrofil

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Neutrofil
Tukey HSD

| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---------------|---------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kontrol (-) | kontrol (+) | -.5520* | .1355 | .001 | -.8880 | -.2160 |
| | perlakuan | 3.8240* | .1355 | .000 | 3.4880 | 4.1600 |
| kontrol (+) | kontrol (-) | .5520* | .1355 | .001 | .2160 | .8880 |
| | perlakuan | 4.3760* | .1355 | .000 | 4.0400 | 4.7120 |
| perlakuan | kontrol (-) | -3.8240* | .1355 | .000 | -4.1600 | -3.4880 |
| | kontrol (+) | -4.3760* | .1355 | .000 | -4.7120 | -4.0400 |

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

Dari hasil analisa data dengan uji *Tukey HSD* pada tiap kelompok kontrol dan perlakuan dapat terlihat bahwa semua data memiliki perbedaan yang bermakna. Pada hasil *Tukey HSD* ketebalan epitel, kontrol negatif dengan kontrol positif berbeda rata-rata 5.7330 dengan probabilitas 0.000 ($P < 0,05$) selang kepercayaan 95%, kontrol negatif dengan perlakuan berbeda rata-rata 11.5990 probabilitas 0.000 ($P < 0,05$) selang kepercayaan 95% dan kontrol positif dengan perlakuan berbeda rata-rata 5.8660 probabilitas 0.000 ($P < 0,05$) selang kepercayaan 95%.

Sedangkan hasil *Tukey HSD* jumlah neutrofil menunjukkan bahwa semua data juga menunjukkan perbedaan yang bermakna pada tiap-tiap kelompok. Kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif berbeda rata-rata 0,5520 dengan probabilitas 0.001 ($P < 0,05$), kelompok kontrol negatif dengan perlakuan berbeda rata-rata 3.2840 dengan probabilitas 0.000 ($P < 0,05$) dan pada kelompok kontrol positif dengan perlakuan berbeda rata-rata 4.3760 probabilitas 0.000 ($P < 0,05$) selang kepercayaan 95%.

BAB 5. PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh stres terhadap ketebalan epitel gingiva serta jumlah sel neutrofil pada tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli*. Stresor mampu menekan sistem syaraf pusat dan selanjutnya akan mengaktifkan respon asetilkolin yang merangsang *hipothalamus* untuk mensekresi *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH), selanjutnya CRH merangsang kelenjar hipofise untuk mensekresi *Adreno Corticotrophin Hormone* (ACTH) yang kemudian merangsang korteks adrenal memproduksi hormon kortisol, sedangkan peningkatan hormon kortisol dalam darah akan meningkatkan reaksi tekanan dalam tubuh baik secara fisik maupun psikologis. Stresor yang timbul akan menyebabkan berbagai gangguan terutama sistem ketahanan tubuh termasuk ketahanan mukosa rongga mulut sehingga terjadi gangguan respon imun (Tuck (2002) dan Bartleby (2001) dalam Suhardjo, 2003).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh stres terhadap ketebalan epitel. Peningkatan kortikosteroid dapat mengkatabolisme protein sehingga terjadi penyusutan sel-sel penyusun jaringan (Murray, 1999; Guyton, 1997; Ganong, 1998). Protein serat terdiri dari 2 tipe, yaitu yang membentuk kerangka (kolagen dan elastin) dan yang merupakan perekat yaitu fibronectin dan laminin yang berfungsi untuk membantu merekatkan sel epitel pada lamina basal (Harijanti, 1996). Pada hasil penelitian, dapat dilihat pada tabel 1 dimana terjadi penurunan ketebalan epitel pada kelompok kontrol positif dan perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol negatif. Penurunan ketebalan epitel kemungkinan juga disebabkan oleh karena penurunan kedua tipe protein ini. Hal ini terjadi oleh karena sel-sel epitel kehilangan perlekatannya pada lamina basal.

Tabel 1 dan gambar 4 menunjukkan bahwa terjadi penurunan ketebalan epitel gingiva yang signifikan antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan, hal

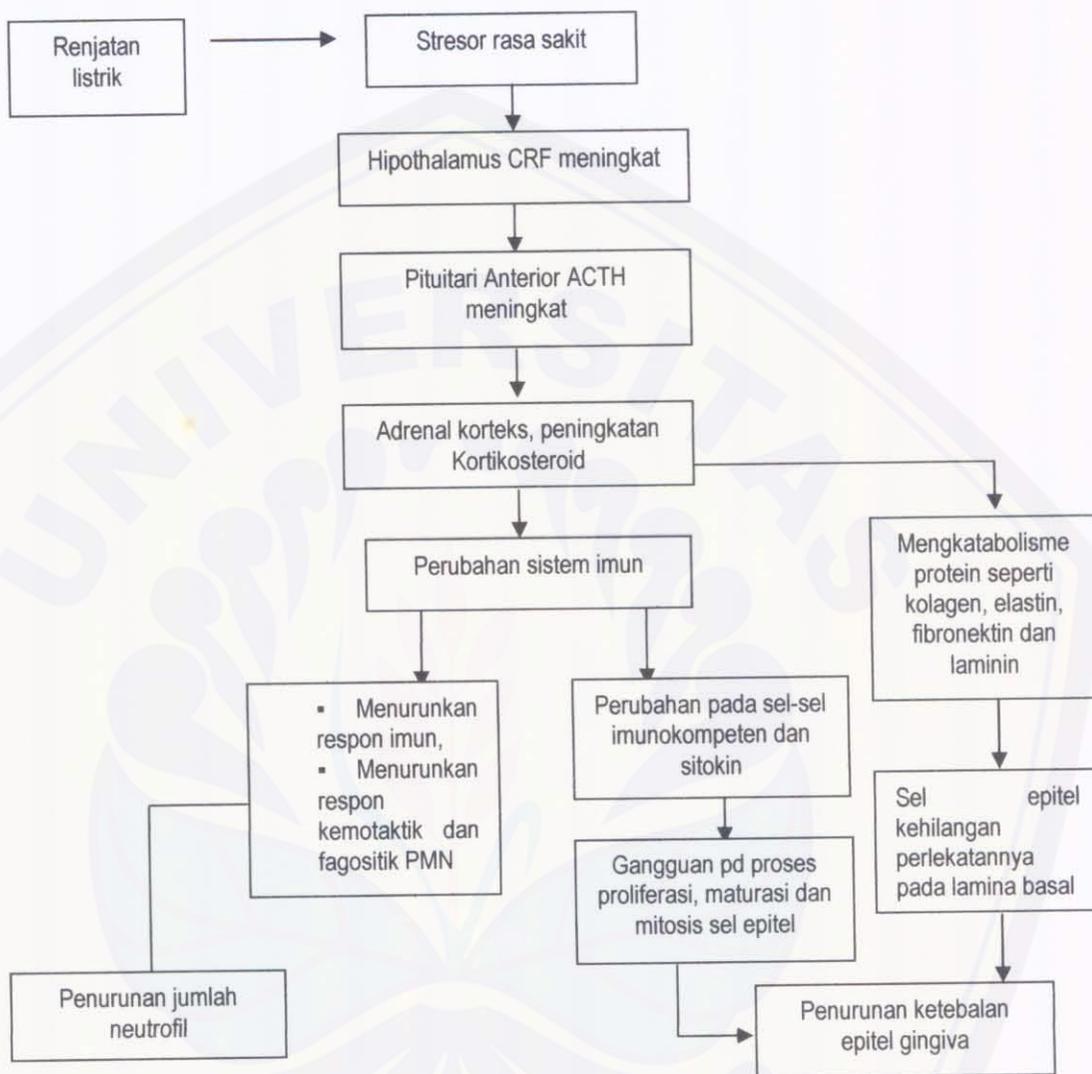
ini kemungkinan dikarenakan pada kelompok perlakuan selain diberikan infeksi bakteri, juga diinduksi stres yang dapat meningkatkan kadar kortisol dan menurunkan sitokin, seperti yang dikatakan pada penelitian Sumintarti (1997) yang menyatakan bahwa pemberian stresor listrik dengan “*electrical foot shock*” menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan penurunan jumlah sel imunokompeten dan sitokin dalam darah. Menurut Djamal dan Winiati (1999) sitokin berperan dalam homeostasis sel epitel karena memiliki peran penting dalam pengaturan aktifitas proliferasi, diferensiasi, maturasi dan kematian sel. Kemungkinan lain penurunan ketebalan epitel gingiva disebabkan oleh karena jumlah sitokin menurun, sehingga kemampuan membentuk sel baru melalui proses mitosis dan proliferasi sel akan terganggu. Gangguan pada proses ini akan mengakibatkan kematian dan lisisnya sel, apabila terjadi secara terus-menerus maka tidak dapat diadaptasi oleh jaringan dibawahnya. Setiap sel termasuk sel epitel gingiva mengalami proses maturasi, yaitu berpindahnya sel-sel dari lapisan basal kearah permukaan dan akhirnya akan mengalami pelepasan dari permukaan epitel. Apabila terjadi gangguan terhadap homeostasis sel normal akan menyebabkan gangguan status maturasi sel (Widodo, 2002).

Neutrofil sangat penting peranannya dalam mekanisme pertahanan terhadap infeksi bakterial. Dalam sistem pertahanan tubuh, neutrofil merupakan fagosit utama terhadap bakteri ekstraselular (Roeslan, 2002). Pada tabel 2 ditunjukkan hasil bahwa terjadi peningkatan jumlah neutrofil pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, hal ini dikarenakan kelompok kontrol positif mengalami peradangan yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli*. Adanya peradangan akan meningkatkan jumlah neutrofil, hal ini sesuai dengan Price dan Wilson (1998) yang mengatakan bahwa sel pertama yang muncul dalam jumlah besar pada jam pertama peradangan adalah neutrofil polimorfonuklear. Hal ini disebabkan, oleh karena mobilitasnya yang tinggi dan juga karena neutrofil terdapat dalam jumlah banyak dalam sirkulasi darah. Selain itu, faktor yang mempengaruhi ialah neutrofil telah aktif pada awal reaksi radang (Robbins dan Kumar, 1995). Dalam jam pertama atau jam-jam berikutnya setelah mulai terjadi peradangan, didalam darah

terjadi kenaikan jumlah neutrofil sampai 4-5 kali lipat dari jumlah normal (Guyton, 1997).

Pada tabel 2 dan gambar 5 ditunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Terjadinya penurunan jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan kemungkinan karena pada kelompok tersebut terjadi infeksi oleh bakteri *Escherichia coli* yang diberikan pada tikus dalam kondisi stres, hal ini ditandai dengan terjadinya diare pada tikus. Tanda-tanda tikus diare dapat dilihat dari konsistensi *faeces* tikus yang encer dan banyak. Notosoedirdjo (1998, 1999) dalam Putra (2003) menyatakan bahwa stres menyebabkan penekanan sistem imun sehingga resiko untuk terserang penyakit infeksi dan autoimun menjadi lebih besar. Ini disebabkan karena glukokortikoid yang menekan aktivitas sistem imun disekresi dalam jumlah besar. Selain itu, peningkatan kortisol akan mempengaruhi respon imun dengan menurunkan respon kemotaktik dan fagositik PMN (Rose dan Steinberg (1998) dalam Roeslan, 2002).

Dari uraian tersebut peneliti menarik garis besar mekanisme suatu stresor yang mempengaruhi respon imun hingga kemudian memberikan manifestasi pada penurunan ketebalan epitel dan penurunan jumlah neutrofil obyek penelitian digambarkan dalam skema berikut :



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Stresor rasa sakit dengan renjatan listrik dapat menyebabkan penurunan ketebalan epitel gingiva tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli*
2. Stresor rasa sakit dengan renjatan listrik dapat menyebabkan penurunan jumlah neutrofil tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli*

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme stresor rasa sakit terhadap ketebalan epitel dan jumlah neutrofil pada tikus *wistar* jantan yang dipapar bakteri *Escherichia coli* maupun dengan bakteri yang lain.



DAFTAR PUSTAKA

- Asnar, E.T.P. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respon imun Mukosal Tikus yang Stress Akibat Stresor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi*. Disertasi Program Doktor. Program Paska Sarjana Surabaya: Universitas Airlangga.
- Baker, H.J.J.R. Lindsey, S. H. Weisbroth. 1979. *The Laboratory Rat. Vol. 1 & 2*. London: Academic Press.
- Bellanti, Z.A. 1993. *Imunology III*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Bevelandar ang Ramalay. 1979. *Dasar-Dasar Histologi*. Edisi 8. Alih Bahasa Dr, Ir. Wisnu Gunarso. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Caceci, T. Dr.. 2004. *Example : Neutrophils*. <http://www.veterinaryhistology.com>.
- Caranza, F. A. 1990. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: WB. Saunders, Co.
- Djamal, N.Z. dan Winiati, E. Peran Sitokin dalam Patogenesis Berbagai Kelainan Mukosa Mulut (Tinjauan Pustaka). *Dalam Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia 1999; Vol. 6 (2): Hal 37 – 42*. Jakarta. EGC.
- Dorland. 1996. *Kamus Kedokteran Dorland*. Alih bahasa : Tim Penerjemah EGC. Judul Asli : "Dorland's Illustrated Medical Dictionary. 1985" Jakarta : EGC.
- Dowshen, S. MD, and E. Woomer, LCSW. 2004. *What is Stress?*. <http://www.kidshealth.org>.
- Fitri, A. N. dan Setyawati, T. 2002. Lesi Mukosa Mulut Dengan Latar Belakang Psikosomatik. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Forum Ilmiah Oktober 2002*. Jakarta: FKG UI.
- Gabriel, J. F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Ganong, W. F. 1998. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 14. Terjemahan: Petrus Andrianto dari Review of Medical Physiology (1995). Jakarta: EGC.
- Gayford, J..J. dan Haskell. R. 1990. *Penyakit Mulut*. Alih Bahasa: Lilian Yuwono. Judul Asli: Clinical Oral Medicine. Jakarta : EGC.

- Guyton, A. 1996. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*, Edisi 3. Alih Bahasa: Petrus Andrianto. Judul Asli: *Human Physiology and Mechanism of Disease*, 1991. Jakarta. EGC.
- Guyton, A. dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Harijati, Kus. 1996. Peranan Vitamin C dalam Kesehatan Jaringan Lunak Rongga Mulut. Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Dentika*, Vol. 29, No. 3. Surabaya. UNAIR.
- Harty E. J, Ogoston R. 1995. *Kamus Kedokteran Gigi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Howe, L. G. dan F. I. H. Whitehead, 1992. *Anastesi Lokal*. Alih Bahasa: Lilian Yuwono. Judul Asli: *Lokal Anaesthesia in Dentistry*. Edisi 3. Jakarta: Hipocrates
- Jawetz, EL Joseph, Melnick dan E. A. Adelbert. 1991. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Tonang dari review of Medical Microbiology. Jakarta: EGC.
- Jawetz, Ernest. 1996. Mikrobiologi Kedokteran. Alih Bahasa : Edi Nugroho. Judul Asli : *Medical Microbiology*. Edisi : 20. Jakarta : EGC.
- Karsinah, Lucky H. M, Suharto dan Mardiasuti H. W. 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Laine, V., David, Timo. 2000. Resistance of Transgenic Mice Expressing Human Group II Phospholipase A2 to Escherichia coli Infection. *Journal of Bacteriology on-line* Januari 2000. Vol. 68 (1).
- Leeson, C. Roland, et al. 1995. *Buku Ajar Histologi*. Terjemahan Staf Ahli Histologi FKUI dari *Textbook of Histologi. 1985*". Edisi : 5. Jakarta : EGC.
- Manson, J. D., B. M. Elley. 1993 Buku Ajar Periodonti. Alih Bahasa: Anastasia. Judul Asli: *Outline of Periodontics*, 1998. Jakarta: Hipocrates.
- Murray, K. R., D. K. Granner, P. A. Mayers, V. W. Rodwel, 1999. *Biokimia Harper Edisi 24*. Alih Bahasa Andry Hartono. Judul Asli *Harper's Biochemistry*. Jakarta: EGC.
- Nadesul, H. dr.. 2004. *Kelainan Darah*. <http://www.medicastore.com>.

- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi revisi. Jakarta : Rineka Pustaka.
- Priandini, D dan G. P. Subita, 1999. Pengaruh Factor Psikogenik Sebagai Penyebab Sindroma Mulut Terbakar. *Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Edisi Khusus Forum Ilmiah VI 1999*. Vol 2. Jakarta: FKG USAKTI.
- Price, S.A., L.M. Wilson. 1994. *Patofisiologi Konsep dan Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi : 4. Penerjemah : Peter, A.. Judul Asli : *Pathophysiology Clinical Concept of Disease Process*. Jakarta : EGC.
- Putra , S. T. 2003. *Perkembangan Patobiologi di Indonesia. Dalam Pertemuan Ilmiah Reguler Nasional III Patobiologi. "Paradigma Patobiologi Sebagai Solusi masalah Berbagai Penyakit"*. Surakarta: UNAIR.
- Robbins dan Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi I*. Terjemahan: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Edisi 4. Jakarta: EGC.
- Roeslan, B. O. 2002. Aspek Imunologik Hubungan Beberapa Penyakit Periodontal dan Penyakit Sistemik. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Forum Ilmiah, Oktober 2002 Vol 8*. Jakarta. FKG USAKTI.
- Selye, H. 1982. *History and Present of The Stress Concept*. Dalam *Handbook of Stress Theoretical and Clinikal Aspect*. Editor: Goldbelger, L. dan Bronitz, S. Collier Mac William. PJG. Newyork.
- Steel, R. G. D dan James, H. T. 1998. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Hal 145. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Suhardjo, I. Bambang, S. Dan Dony, J. 2003. Peningkatan Kadar Kortisol Pada Penderita Reccurent Aphthous Ulceration (Pendekatan Psikoneuroimunologil). *Dalam Dentika Dental Journal Vol. 8, No. 2, 2003 (Supplement): 178 – 181*. Surabaya UNAIR.
- Suryadhana, N. G., Utami, Joenoer, Farida, Yetty. 1997. Evaluasi Tingkat Migrasi Neutrofil (OMR) dalam Mulut pada Mahasiswa FKG UI dengan Stress Akademik. *Dalam Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. Vol. 4. No. 3. Jakarta. FKG UI.
- Sulistiyani, E. 2003. Mekanisme Eksaserbasi Reccurent Aphthous Stomatitis yang dipicu oleh Stresor Psikologis. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Kedokteran III no 6 – 9 Agustus 2003*. Surabaya: FKG UNAIR.

Sumintarti, 1997. *Pengaruh Asap Rokok dan Stress Terhadap Respons Imun Mencit. Penelitian Experimental Laboratorium*. Disertasi Program Doktor. Program Pasca Sarjana. Surabaya: UNAIR

Widodo, Budi A. H.. 2002. *Pengaruh Penggunaan Nifedipin Terhadap Komposisi Jenis Sel Epitel Gingiva*. Dalam *Jurnal PDGI*. Tahun : 53. No : 1.

Yayasan Pendidikan Ani Idrus. 2004. *Stres Pada Wanita*. Sekolah Tinggi Ilmu Komunikasi Pembangunan. <http://www.waspada.co.id>.

Yong, M. 2002. *Siri Haiwan Bakteri Escherichia coli*. <http://www.geocities.com>

.....<http://www.about-E.coli.com>.

Lampiran 1. Perhitungan Besar Sampel

PERHITUNGAN BESAR SAMPEL

Besar sample yang digunakan pada penelitian ini berdasar rumus berikut :

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

Keterangan:

- n = besar sample minimal
 $Z\alpha$ = batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)
 $Z\beta$ = batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)
 σD^2 = diasumsikan $\sigma D^2 = \delta^2$
 α = tingkat signifikan (0,025)
D = prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,8)
 D = $1 - \beta$
 β = 0,20
 $Z\alpha$ = 1,96
 $Z\beta$ = 0,85

Maka hasil hasil perhitungan besar sample sebagai berikut:

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

$$n = \left[\frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma D^2}{\delta^2} \right]$$

$$n = 7,896$$

$$n = 8$$

Jadi besar sample minimal berdasarkan rumus di atas adalah 8 sampel masing- masing kelompok (Steel dan Torrie, 1995).

*Lampiran 2 komposisi makanan standart tikus***MAKANAN STANDART TIKUS**

Makanan standart untuk tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah Jenis konsentrat yang memiliki komposisi sebagai berikut:

1. Protein 21 %
2. Serat 4 %
3. Lemak 4 %
4. Air 14 %
5. Abu 6,5 %
6. Kalsium 0,9 – 1,1 %
7. Pospor 0,7 – 0,9 %

Sumber: Feedmill Malindo, Gresik

*Lampiran 3 tahap pembuatan sediaan***PEMBUATAN SEDIAAN JARINGAN GINGIVA**

1. Semua tikus diambil pengambilan jaringan gingival segar, dengan melakukan pemotongan jaringan gingival dengan ukuran 1 cm x 0,2 mm
2. Jaringan dimasukkan kedalam larutan fiksasi (formalin buffer 10 %) kemudian didehidrasi dalam konsentrasi alkohol yang ditingkatkan.
3. Jaringan dicuci dengan air mengalir selama 12 jam.
4. Jaringan didekalsifikasi dalam larutan NaSO_4 2 % selama 24 jam.
5. Dicuci dengan air mengalir selama 12 jam.
6. Dilakukan pencetakan dalam blok paraffin.
7. Pemotongan dengan alat mikroton dengan ketebalan 5 – 6 μm .
8. Hasil pemotongan ditaruh pada waterbath dengan temperatur 40 derajat celcius, 50 derajat celcius, dibiarkan sebentar agar potongan tersebut menjadi mekar, setelah itu dimasukkan oven paraffin dengan temperatur 56 derajat celcius selama 3 – 4 jam.
9. Potongan direkatkan pada gelas obyek dan dikeringkan.
10. Membersihkan paraffin (dengan Xilen).

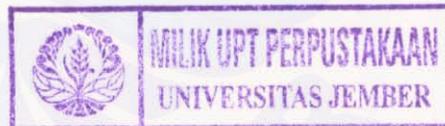
(Sobotta; Hammersen, 1990)

Lampiran 4 Tahap pengecatan hematoxylin eosin (HE)

PENGECATAN HEMATOXYILIN EOSIN (HE)

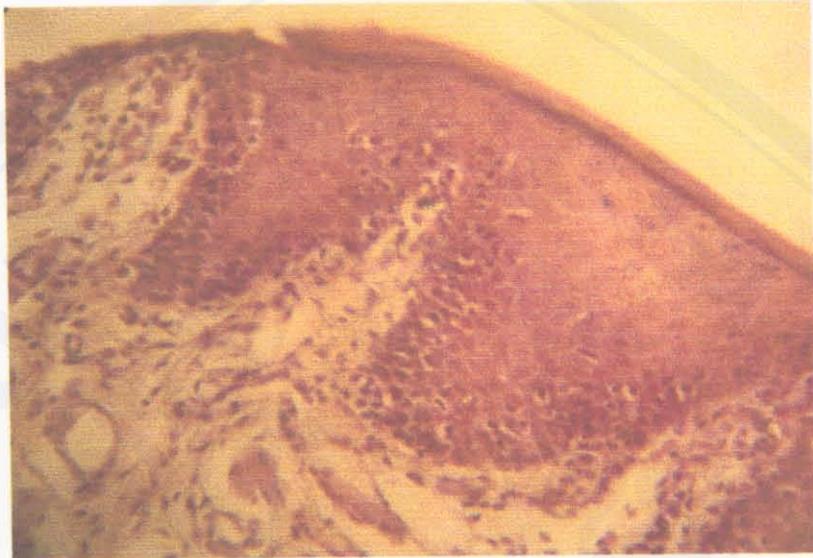
Menurut Sudiana (th:30) tahap pengecatan dengan HE adalah sebagai berikut:

1. Sediaan jaringan dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2 menit lalu ulangi dengan memasukkan kembali ke dalam *xylol* dalam wadah yang berbeda selama 2 menit
2. Fiksasi sediaan jaringan dengan larutan alcohol absolut selama 1 menit lalu ulangi dengan memasukkan kembali ke dalam alcohol dalam wadah yang berbeda selama 1 menit
3. Lakukan fiksasi dengan memasukkan sediaan jaringan ke dalam alcohol 95 % dalam wadah yang berbeda selama 1 menit
4. Bilas sediaan jaringan dengan air mengalir selama 10 menit sampai 15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna

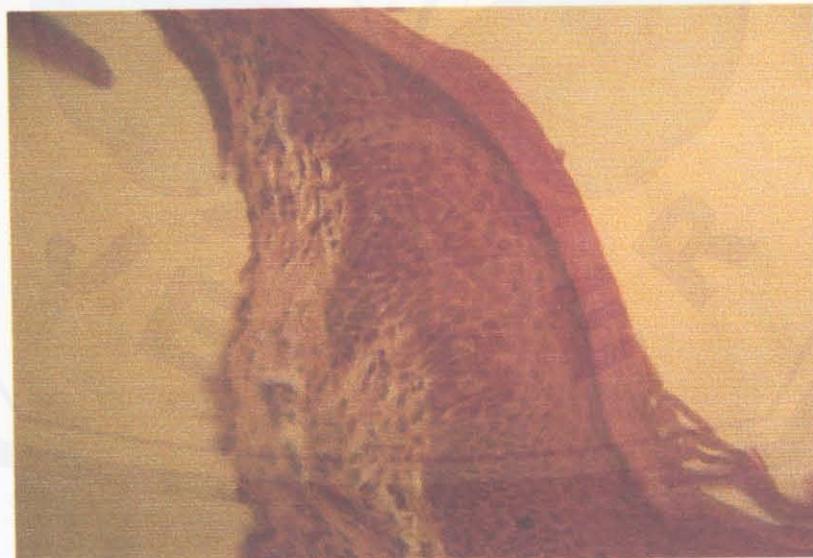


Lampiran 5 Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Perlakuan

**EPITEL GINGIVA KELOMPOK KONTROL NEGATIF, POSITIF
DAN PERLAKUAN**

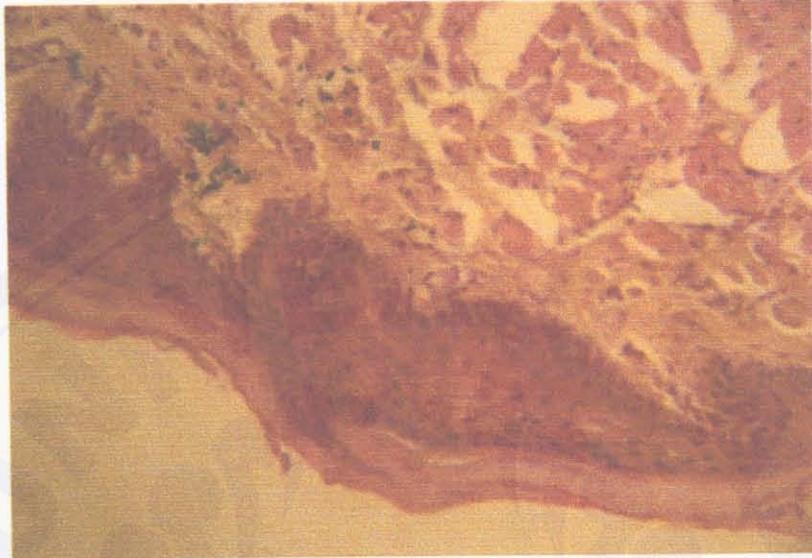


Gambar Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif



Gambar Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Positif

Lampiran 5 Epitel Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Perlakuan

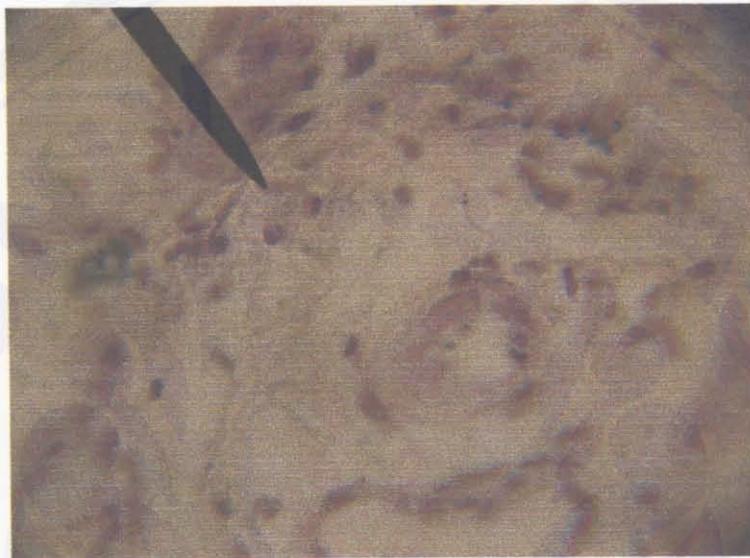


Gambar Epitel Gingiva Kelompok Perlakuan

JEMBER

Lampiran 6 Sel Neutrofil Pada Jaringan Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Perlakuan

SEL NEUTROFIL PADA JARINGAN GINGIVA KELOMPOK KONTROL NEGATIF, POSITIF DAN PERLAKUAN

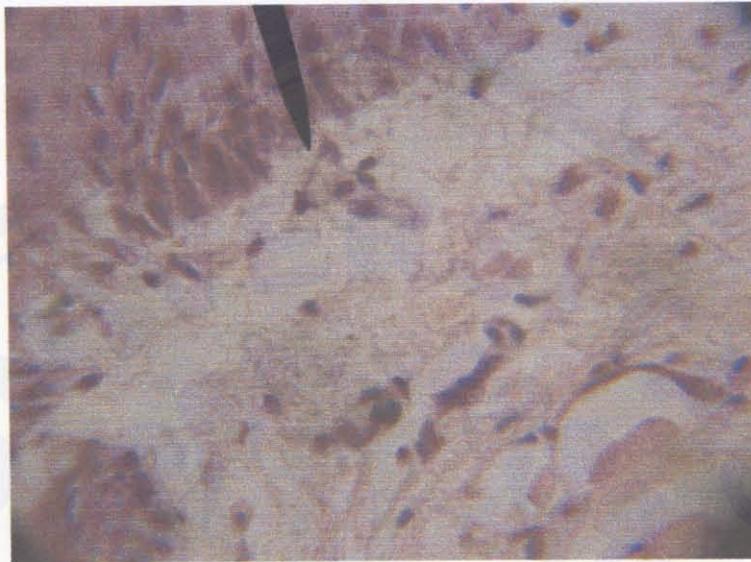


Sel Neutrofil Pada Kelompok Kontrol Negatif

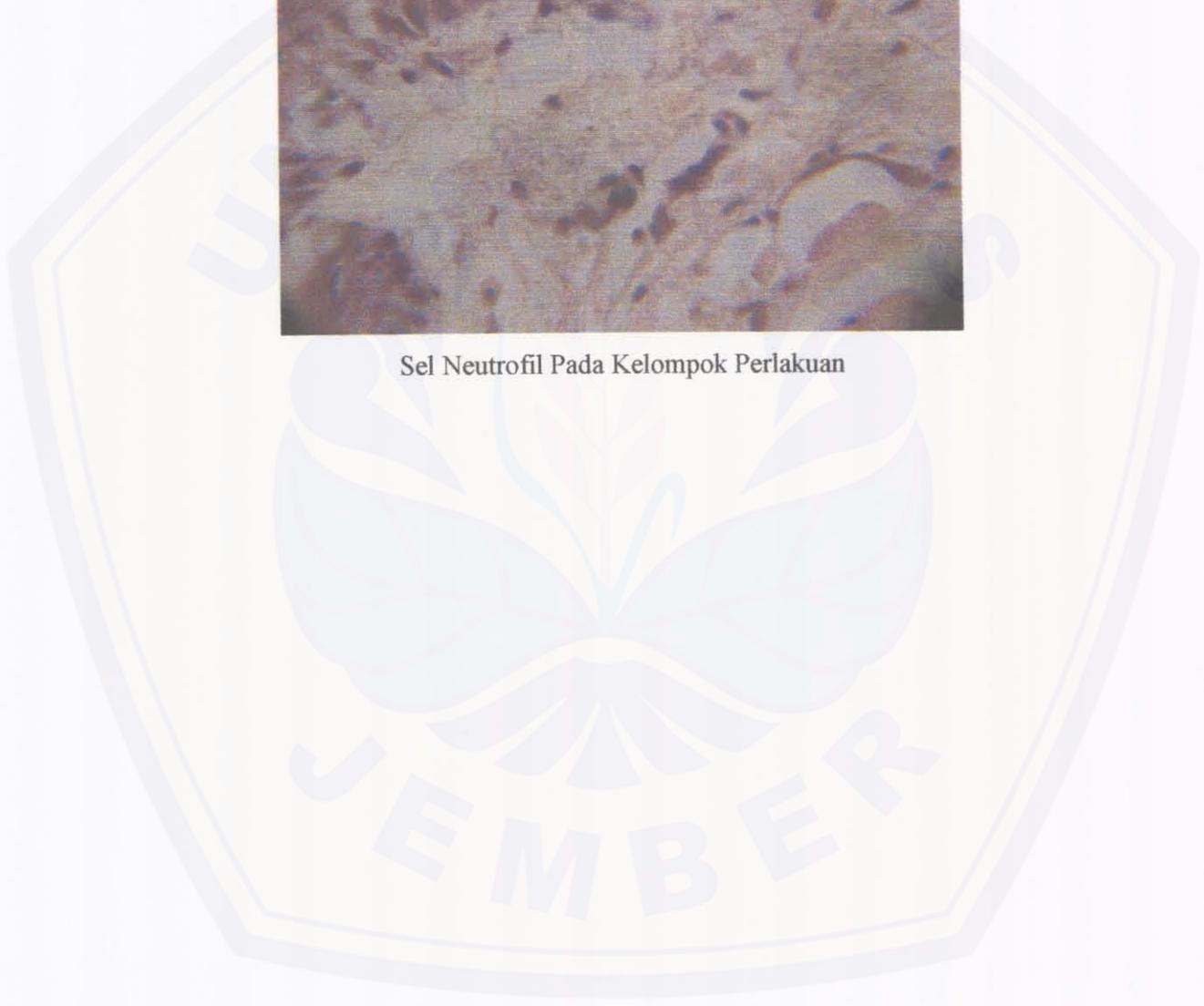


Sel Neutrofil Pada Kelompok Kontrol Positif

Lampiran 6 Sel Neutrofil Pada Jaringan Gingiva Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Perlakuan



Sel Neutrofil Pada Kelompok Perlakuan



*Lampiran 7 Alat dan Bahan Pembuatan Jaringan***ALAT DAN BAHAN PEMBUATAN JARINGAN****Keterangan**

1. Mikrotom
2. Media Embedding Jaringan
3. Haemotoxilyn
4. Eosin
5. Emmersen oil
6. Blok Parafin
7. Preparat Jaringan
8. Mikroskop Binokuler

Lampiran 8. Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil dan Analisa Data

Jumlah Neutrofil

| sampel | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
|-----------|-------------|-------------|-----------|
| 1 | 6.89 | 7.00 | 3.11 |
| 2 | 6.44 | 7.67 | 3.33 |
| 3 | 7.56 | 7.55 | 3.67 |
| 4 | 7.23 | 7.77 | 3.22 |
| 5 | 7.23 | 7.22 | 3.45 |
| 6 | 6.89 | 7.44 | 3.11 |
| 7 | 7.00 | 8.00 | 2.89 |
| 8 | 7.55 | 7.78 | 3.22 |
| 9 | 6.67 | 7.89 | 3.00 |
| 10 | 7.11 | 7.77 | 3.33 |
| Rata-rata | 7.06 | 7.61 | 3.23 |
| sd | 0.36 | 0.31 | 0.23 |

Jumlah Neutrofil**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

| | | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
|----------------------------------|----------------|-------------|-------------|-----------|
| N | | 10 | 10 | 10 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 7.0570 | 7.6090 | 3.2330 |
| | Std. Deviation | .3572 | .3111 | .2259 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .120 | .198 | .134 |
| | Positive | .114 | .104 | .134 |
| | Negative | -.120 | -.198 | -.093 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .380 | .625 | .423 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .999 | .830 | .994 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variance

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|--------------------------------------|------------------|-----|--------|------|
| Jumlah Neutrofil | Based on Mean | 1.044 | 2 | 27 | .366 |
| | Based on Median | .853 | 2 | 27 | .437 |
| | Based on Median and with adjusted df | .853 | 2 | 24.249 | .439 |
| | Based on trimmed mean | 1.033 | 2 | 27 | .370 |

Oneway**Descriptives**

| Jumlah Neutrofil | | 95% Confidence Interval for Mean | | | | | | |
|------------------|----|----------------------------------|----------------|------------|-------------|-------------|---------|---------|
| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | Lower Bound | Upper Bound | Minimum | Maximum |
| kontrol (-) | 10 | 7.0570 | .3572 | .1130 | 6.8015 | 7.3125 | 6.44 | 7.56 |
| kontrol (+) | 10 | 7.6090 | .3111 | 9.837E-02 | 7.3865 | 7.8315 | 7.00 | 8.00 |
| perlakuan | 10 | 3.2330 | .2259 | 7.145E-02 | 3.0714 | 3.3946 | 2.89 | 3.67 |
| Total | 30 | 5.9663 | 2.0006 | .3653 | 5.2193 | 6.7134 | 2.89 | 8.00 |

Lampiran 8. Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil dan Analisa Data

Test of Homogeneity of Variances

| Jumlah Neutrofil | | | | |
|------------------|-----|-----|------|--|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. | |
| 1.044 | 2 | 27 | .366 | |

ANOVA

| Jumlah Neutrofil | | | | | |
|------------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 113.590 | 2 | 56.795 | 618.705 | .000 |
| Within Groups | 2.479 | 27 | 9.180E-02 | | |
| Total | 116.069 | 29 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Neutrofil

Tukey HSD

| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---------------|---------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kontrol (-) | kontrol (+) | -.5520* | .1355 | .001 | -.8880 | -.2160 |
| | perlakuan | 3.8240* | .1355 | .000 | 3.4880 | 4.1600 |
| kontrol (+) | kontrol (-) | .5520* | .1355 | .001 | .2160 | .8880 |
| | perlakuan | 4.3760* | .1355 | .000 | 4.0400 | 4.7120 |
| perlakuan | kontrol (-) | -3.8240* | .1355 | .000 | -4.1600 | -3.4880 |
| | kontrol (+) | -4.3760* | .1355 | .000 | -4.7120 | -4.0400 |

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

Homogeneous Subsets

Jumlah Neutrofil

| Tukey HSD ^a | | | | |
|------------------------|----|------------------------|--------|--------|
| Perlakuan | N | Subset for alpha = .05 | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| perlakuan | 10 | 3.2330 | | |
| kontrol (-) | 10 | | 7.0570 | |
| kontrol (+) | 10 | | | 7.6090 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

Lampiran 9. Hasil Perhitungan Ketebalan Epitel dan Analisa Data

ketebalan epitel

| sampel | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
|-----------|-------------|-------------|-----------|
| 1 | 28.33 | 24.33 | 17.00 |
| 2 | 29.67 | 23.67 | 17.67 |
| 3 | 25.67 | 24.00 | 18.00 |
| 4 | 30.33 | 24.67 | 19.67 |
| 5 | 28.33 | 21.67 | 15.00 |
| 6 | 32.67 | 23.33 | 17.33 |
| 7 | 27.67 | 23.33 | 10.67 |
| 8 | 30.33 | 20.33 | 19.33 |
| 9 | 27.33 | 23.00 | 18.67 |
| 10 | 27.33 | 22.00 | 18.33 |
| Rata-rata | 28.77 | 23.03 | 17.17 |
| sd | 2.01 | 1.34 | 2.63 |

Ketebalan Epitel

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | Kontrol (-) | Kontrol (+) | Perlakuan |
|----------------------------------|----------------|-------------|-------------|-----------|
| N | | 10 | 10 | 10 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 28.7660 | 23.0330 | 17.1670 |
| | Std. Deviation | 2.0067 | 1.3380 | 2.6345 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .186 | .190 | .275 |
| | Positive | .186 | .111 | .171 |
| | Negative | -.137 | -.190 | -.275 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .588 | .601 | .869 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .880 | .863 | .437 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variance

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|--------------------------------------|------------------|-----|--------|------|
| Ketebalan Epitel | Based on Mean | .840 | 2 | 27 | .443 |
| | Based on Median | .528 | 2 | 27 | .596 |
| | Based on Median and with adjusted df | .528 | 2 | 18.889 | .598 |
| | Based on trimmed mean | .684 | 2 | 27 | .513 |

Oneway

Descriptives

| Ketebalan Epitel | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|------------------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| kontrol (-) | 10 | 28.7660 | 2.0067 | .6346 | 27.3305 | 30.2015 | 25.67 | 32.67 |
| kontrol (+) | 10 | 23.0330 | 1.3380 | .4231 | 22.0759 | 23.9901 | 20.33 | 24.67 |
| perlakuan | 10 | 17.1670 | 2.6345 | .8331 | 15.2824 | 19.0516 | 10.67 | 19.67 |
| Total | 30 | 22.9887 | 5.2112 | .9514 | 21.0428 | 24.9345 | 10.67 | 32.67 |

Lampiran 9. Hasil Perhitungan Ketebalan Epitel dan Analisa Data

Test of Homogeneity of Variances

| Ketebalan Epitel | | | | |
|------------------|-----|-----|------|--|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. | |
| .840 | 2 | 27 | .443 | |

ANOVA

| Ketebalan Epitel | | | | | |
|------------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 672.713 | 2 | 336.357 | 79.097 | .000 |
| Within Groups | 114.816 | 27 | 4.252 | | |
| Total | 787.530 | 29 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ketebalan Epitel

Tukey HSD

| (I) Perlakuan | (J) Perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---------------|---------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kontrol (-) | kontrol (+) | 5.7330* | .9222 | .000 | 3.4464 | 8.0196 |
| | perlakuan | 11.5990* | .9222 | .000 | 9.3124 | 13.8856 |
| kontrol (+) | kontrol (-) | -5.7330* | .9222 | .000 | -8.0196 | -3.4464 |
| | perlakuan | 5.8660* | .9222 | .000 | 3.5794 | 8.1526 |
| perlakuan | kontrol (-) | -11.5990* | .9222 | .000 | -13.8856 | -9.3124 |
| | kontrol (+) | -5.8660* | .9222 | .000 | -8.1526 | -3.5794 |

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

Homogeneous Subsets

Ketebalan Epitel

Tukey HSD^a

| Perlakuan | N | Subset for alpha = .05 | | |
|-------------|----|------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| perlakuan | 10 | 17.1670 | | |
| kontrol (+) | 10 | | 23.0330 | |
| kontrol (-) | 10 | | | 28.7660 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

