

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Nyeri

2.1.1 Definisi nyeri

Menurut *International Association for the Study of Pain (IASP)*, nyeri didefinisikan sebagai suatu pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan dan berhubungan dengan kerusakan jaringan aktual maupun potensial (O'Neil, 2008). Nyeri dapat timbul dimana saja pada bagian tubuh sebagai respon terhadap stimulus yang berbahaya bagi tubuh seperti suhu yang terlalu panas atau terlalu dingin, tertusuk benda tajam, atau patah tulang. Rasa nyeri yang timbul apabila terjadi kerusakan jaringan akan menyebabkan individu bereaksi dengan cara memindahkan posisi tubuhnya (Guyton & Hall, 2006).

Sebagian besar penderita nyeri mengeluhkan bahwa nyeri menjadi problema yang dapat berdampak bagi penurunan kualitas hidup mereka (O'Neil, 2008). Menurut *American Academic For Pain* (2011), sebanyak 100 juta orang di Amerika Serikat menderita nyeri kronis dan 46 juta orang menderita nyeri akut pasca operasi. Nyeri tidak hanya berdampak pada kualitas hidup namun juga berdampak bagi kondisi finansial masyarakat. Hal ini didukung oleh data yang diperoleh *American Academic For Pain*, bahwa pada tahun 2008 biaya yang dikeluarkan untuk pengobatan nyeri sejumlah \$99 miliar. Sedangkan pada tahun 2011, biaya yang dikeluarkan meningkat menjadi \$560-\$635 miliar. Peningkatan biaya yang signifikan ini menandakan terjadinya peningkatan penderita nyeri setiap tahunnya. Di Indonesia sendiri, 25-50% masyarakat usia lanjut mengalami sensasi nyeri

yang memberikan dampak negatif bagi kualitas hidup mereka (Kartini dalam Susilo *et al.*, 2008).

Nyeri merupakan sesuatu yang bersifat subyektif. Setiap individu memahami nyeri melalui pengalaman yang berhubungan langsung dengan perlukaan (*injury*) yang terjadi dalam kehidupannya (Andarmoyo, 2013). Rasa nyeri akan disertai respon stress, antara lain berupa meningkatnya rasa cemas, denyut jantung, tekanan darah, dan frekuensi nafas. Nyeri yang berlanjut atau tidak ditangani secara adekuat dapat memicu respon stress yang berkepanjangan, yang akan menurunkan daya tahan tubuh dengan menurunkan fungsi imun serta mempercepat kerusakan jaringan sehingga akhirnya akan memperburuk kualitas kesehatan (Hartwig & Wilson, 2006).

Beberapa mekanisme pembentukan respon telah diketahui, diantaranya rangsangan nosiseptif, sensitisasi perifer, dan sensitisasi sentral. Rangsangan nosiseptif merupakan satu-satunya mekanisme yang menyebabkan nyeri nosiseptif dan terdiri dari beberapa proses yaitu proses transduksi, transmisi, persepsi dan modulasi. Transduksi merupakan proses perubahan rangsangan nyeri menjadi potensial elektrik di reseptor nyeri (nosiseptor). Transmisi merupakan proses penyaluran impuls nyeri dari reseptor nyeri di perifer menuju ke terminal sentral di medula spinalis dan dilanjutkan ke otak. Persepsi adalah hasil interaksi sistem saraf sensoris, informasi kognitif (korteks serebri), dan pengalaman emosional yang menentukan berat atau ringan nyeri yang dirasakan. Sedangkan modulasi nyeri meliputi peningkatan aktivitas nosiseptor yang dimediasi oleh faktor kimiawi (neurotransmitter), selain itu juga perubahan transmisi nyeri pada medula spinalis melalui aktivasi jalur *descendens* (Andarmoyo, 2013).

2.1.2 Klasifikasi nyeri

Berdasarkan patofisiologinya, nyeri terbagi menjadi :

1. Nyeri Akut

Nyeri akut adalah nyeri dengan durasi sensasi nyeri pendek dan bertahan kurang dari 3 hingga 6 bulan. Nyeri akut memiliki fungsi peringatan pada tiap individu akan adanya penyakit maupun rangsangan yang akan membahayakan dan mengakibatkan kerusakan jaringan (Le Bars *et al.*, 2001). Nyeri akut memiliki onset yang lebih cepat dibandingkan nyeri kronis (Carr & Goudas, 1999). Nyeri akut biasanya dapat diobati dengan baik menggunakan obat golongan analgesik, NSAID atau opioid (Khotib, 2006).

Nyeri akut pada perlukaan biasanya hilang seiring sembuhnya perlukaan. Nyeri akut meliputi nyeri nosiseptif, nyeri somatis atau viseral pramedikasi, nyeri pra dan pasca operasi, nyeri pasca traumatis, nyeri pasca melahirkan, sakit kepala akut, nyeri pada neuralgia terminal (*Tic Doloieux*), nyeri intervensional (akibat prosedur diagnostik dan terapeutik), pankreatitis dan nyeri kolik lainnya (Kumar, 2007).

2. Nyeri Kronis

Nyeri kronis bertahan lebih lama hingga tenggang waktu lebih dari 6 bulan dan berkisar antara intensitas ringan hingga berat. Nyeri ini muncul karena adanya kerusakan atau perubahan patofisiologi pada sistem saraf, baik sentral maupun perifer. Nyeri kronis yang berkepanjangan dapat menimbulkan berbagai perubahan yang signifikan dalam hal perilaku, kemampuan dan gaya hidup (Jennings, 2003). Nyeri kronis yang diasosiasikan dengan keganasan meliputi nyeri akibat kanker, *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS), multipel sklerosis, anemia sel sabit, sklerosis, obstruksi paru yang parah, gagal

jantung yang parah dan Parkinson. Nyeri kronis yang tidak terkait dengan keganasan dapat disebabkan oleh penyakit yang diketahui maupun tidak diketahui. Nyeri tipe ini meliputi nyeri yang diasosiasikan dengan berbagai kelainan neuropati akibat penekanan pada saraf (Kumar, 2007). Nyeri kronis yang disebabkan oleh inflamasi dapat berlanjut menjadi nyeri neuropati karena adanya lesi pada saraf perifer maupun saraf pusat yang disebabkan oleh sensitisasi terus-menerus dari mediator inflamasi. Keadaan nyeri dapat bertambah parah seiring adanya stres, emosi, dan kondisi fisik namun dapat mereda oleh relaksasi (O'Neil, 2008).

Berdasarkan mekanisme terjadinya, nyeri dapat dikategorikan menjadi :

1. Nyeri Nosisseptif

Nyeri nosisseptif merupakan peringatan awal terhadap adanya stimulus yang dapat membahayakan ataupun merusak jaringan normal tubuh sehingga nyeri ini merupakan sensasi fisiologis yang vital. Nyeri nosisseptif meliputi nyeri somatik dan nyeri viseral. Nyeri somatik disebabkan karena aktivasi reseptor nyeri pada permukaan tubuh atau jaringan dalam. Sedangkan nyeri viseral muncul setelah aktivasi nosisseptor oleh infiltrasi mediator nyeri, kompresi, ataupun ekstensi lain dari visera. Nyeri nosisseptif memberi respon baik pada pemberian obat anti nyeri meliputi NSAID dan analgesik opioid (Woolf, 2004).

2. Nyeri Inflamasi

Nyeri inflamasi merupakan usaha tubuh untuk melakukan perbaikan terhadap jaringan yang rusak. Nyeri pada inflamasi kronis bersifat konstan dan sering dikarakteristikan sebagai kondisi

hipersensitivitas terhadap nyeri sebagai respon terhadap kerusakan jaringan. Inflamasi muncul karena adanya kerusakan jaringan yang mengakibatkan gangguan pada membran sel. Gejala yang menyertai inflamasi meliputi panas, nyeri, kemerahan, bengkak dan hilangnya fungsi (Calder, 2006). Jaringan yang mengalami inflamasi mengeluarkan berbagai mediator inflamasi, seperti: bradikinin, leukotrin, prostaglandin, sitokin, kemokin yang dapat mengaktifasi atau mensensitisasi nosiseptor (Andarmoyo, 2013).

3. Nyeri Neuropati

Nyeri neuropati muncul akibat disfungsi atau kerusakan sistem saraf perifer yang dikarakteristikan oleh kombinasi rasa nyeri yang spontan, *hyperalgesia*, dan *allodynia*. Nyeri neuropati menimbulkan gejala seperti terbakar dan kesemutan. Nyeri ini dapat terjadi akibat multipel sklerosis, stroke, pengikatan serabut perifer, ataupun *spinal cord injury* (Kim *et al*, 2004).

2.1.3 Mekanisme nyeri

Di permukaan kulit terdapat ujung syaraf bebas (*free nerve endings*) yang akan aktif pada saat terdapat rangsangan nyeri dan akan menghantarkan stimulus nyeri. Pada ujung syaraf bebas serabut aferen primer terdapat suatu reseptor yang akan teraktivasi secara spesifik oleh stimulus *noxious* atau stimulus nyeri. Reseptor ini disebut sebagai nosiseptor dan tersebar luas hampir di seluruh jaringan dalam tubuh antara lain periosteum, dinding arteri, permukaan sendi, dan serebri (Brenner, 2002). Nosiseptor memiliki sifat mudah mengalami modifikasi atau plastis sebagai respon terhadap adanya perlukaan pada akson dan akibat paparan pada inflamasi. Terdapat dua macam nosiseptor yaitu serabut A δ yang bermielin

tipis dan serabut C yang tidak bermielin (Woolf&Ma, 2007; Guyton&Hall, 2006).

Nyeri yang dihantarkan oleh serabut A δ biasanya memiliki lokalisasi yang jelas dengan kualitas menusuk tajam atau elektrik. Sedangkan sensasi nyeri yang dihantarkan oleh serabut C memiliki lokalisasi kurang jelas dengan rasa terbakar (Brenner, 2002). Stimulasi terhadap serabut C secara terus menerus oleh stimulus *noxious* disertai pelepasan peptida transmitter seperti substansi P yang ditemukan di serabut saraf C bersama dengan glutamat bertanggung jawab terhadap adanya respon nosiseptif di *dorsal horn*. Fenomena ini bersifat reversibel dan akan kembali normal setelah stimulus *noxious* hilang (Brenner, 2002).

Perlukaan dan kerusakan jaringan akan menyebabkan perubahan lingkungan kimia nosiseptor terminal di perifer. Jaringan yang rusak saat inflamasi mengakibatkan dilepaskannya mediator inflamasi yang dapat menyebabkan nyeri. Berbagai mediator ini dapat dilepaskan oleh sel jaringan yang mengalami kerusakan atau sel penginduksi inflamasi yang bergerak menuju jaringan tersebut. Sel yang rusak akan melepaskan *Adenosine Triphosphate* (ATP) dan ion K⁺. Sel penginduksi inflamasi akan bergerak menuju jaringan yang mengalami kerusakan dan akan mengeluarkan mediator inflamasi seperti sitokin, kemokin, bradikinin, histamin, serotonin, prostaglandin, substansi P, maupun faktor pertumbuhan (*Nerve Growth Factor/NGF*). Pada jaringan yang rusak juga terjadi penurunan pH akibat pelepasan H⁺ (Woolf, 2004).

Komponen biokimiawi yang dilepaskan selama inflamasi akan mengaktifkan terminal perifer nosiseptor. Serotonin merupakan hormon lokal yang dapat merangsang timbulnya rasa nyeri dengan lebih kuat dibandingkan dengan bradikinin. Adanya peningkatan konsentrasi K⁺ akan

mempengaruhi intensitas nyeri (Lullman, 2000). Aktivasi nosiseptor terus menerus oleh mediator inflamasi seperti NGF, Bradikinin, Prostaglandin E2 akan menimbulkan sensitisasi perifer meliputi *allodynia* dan hiperalgesia primer (Woolf, 2004).

2.2 Tinjauan Musik

2.2.1 Definisi musik

Musik adalah salah satu aspek kecil dalam kehidupan dan perkembangan jiwa manusia yang dapat membangkitkan emosi, menimbulkan relaksasi, serta mengubah *mood*. Musik merupakan bunyi yang dibentuk secara harmonis dimana getaran udara yang harmonis tersebut akan ditangkap oleh organ pendengaran dan selanjutnya melalui saraf di dalam tubuh disampaikan ke susunan saraf pusat sehingga menimbulkan kesan tertentu di dalam diri. Harmonisasi nada dan irama musik mempengaruhi kesan harmoni di dalam diri. Jika harmoni musik setara dengan irama internal tubuh kita, maka musik akan memberikan kesan yang menyenangkan, sebaliknya jika harmoni musik tidak setara dengan irama internal tubuh, maka musik akan memberikan kesan yang kurang menyenangkan (Satyadarma & Zahra, 2004).

2.2.2 Jenis musik

Jenis musik yang digunakan sebagai terapi digolongkan menjadi dua, yaitu jenis musik yang memberikan perasaan bersemangat, bertenaga dan termotivasi seperti musik *rock*, *hiphop*, *heavy metal* dan *mars*. Sedangkan golongan lainnya yaitu jenis musik yang dapat menimbulkan rasa bahagia, menghilangkan tekanan dan ketegangan seperti musik *jazz*, instrumen serta klasik (Campbell dalam Yuwantari, 2011)

Secara psikologis pembagian jenis musik sebagai terapi digambarkan sebagai berikut :

1. Gregorian, menggunakan ritme pernafasan alamiah untuk menciptakan perasaan lapang dan santai sehingga sesuai untuk mengiringi belajar, meditasi dan mengurangi stress.
2. Barok, musik yang lambat seperti *Bach, Hendel, Vivaldi, dan Corelli* yang memberikan perasaan teratur aman dan menciptakan suasana yang merangsang pikiran untuk belajar dan bekerja.
3. Klasik, seperti *Haydn* dan *Mozart* yang memiliki kemampuan untuk memperbaiki konsentrasi, ingatan serta persepsi parsial.
4. Romantik, seperti *Scubertm Scumann, Chopin* dan *Lizst* yang dapat menimbulkan perasaan simpati dan rasa penderitaan.
5. Impressionis misalnya *Debussy, Frau* dan *Ravel*, lima belas menit lamunan dengan lantunan musikal dan beberapa menit peregangan dapat membuka impuls-impuls kreatif.
6. *Jazz, Blues, Dixieland, Soul, Callypso* dan *Reggeae* serta bentuk musik lain yang muncul dari daratan Afrika memberi efek kecerdasan.
7. *Salsa, Rhumba, Maranga, Makarena*, serta macam lain musik Amerika Selatan memiliki ritme dan ketukan yang mempercepat denyut jantung dan meningkatkan pernafasan.
8. *Pop* dan *country-western* menimbulkan efek psikologis yang dapat menggugah emosi.
9. *Rock* yang dapat meningkatkan ketegangan, disonansi stress, dan rasa sakit dalam tubuh.
10. *Ambien*, titudinal atau *new age* memperpanjang perasaan ruang dan waktu dan menimbulkan keadaan waspada.

11. *Heavy metal, punk, hiphop, dan grange* menggugah sistem saraf yang menjurus pada perilaku dinamis.
12. Musik rohani dan suci termasuk *gending shaman* dan *gospel* menimbulkan perasaan aman dan damai serta mengurangi rasa sakit pada tubuh (Campbell dalam Yuwantari, 2011).

2.2.3 Musik sebagai terapi

Menurut Andarmoyo (2013), musik merupakan jenis metode terapi distraksi audio dengan cara mengalihkan perhatian dari nyeri melalui organ pendengaran. Secara keseluruhan, musik dapat berpengaruh secara fisik maupun psikologi. Dari segi fisik, musik dapat membangkitkan aktivitas sistem saraf otonom tubuh dengan munculnya beberapa respon yang bersifat spontan dan tak terkontrol, misalnya mengetukkan jari. Musik juga dapat mengalihkan perhatian dari rasa sakit, memutus siklus kecemasan dan ketakutan yang mengintensifkan reaksi nyeri, dan memfokuskan perhatian pada sensasi yang menyenangkan (Alexander, 2001; Campbell dalam Yuwantari, 2011). Menurut Beck (dalam Alexander, 2001), musik dapat menstimulasi pelepasan endorfin sehingga dapat bermanfaat dalam proses penyembuhan.

Beberapa studi menunjukkan dengan terapi musik menghasilkan perbaikan dalam integrasi penginderaan, relaksasi, meditasi, pengurangan stress, pengelolaan rasa sakit, tidur, dan menjaga kesehatan. Selain itu, juga dapat menghasilkan lingkungan belajar yang lebih baik, meningkatkan memori dan meningkatkan kreativitas (Hiew, 1995; Atwater, 1999).

Pada dasarnya di setiap aktivitas yang dilakukan manusia gelombang otak memainkan perannya agar manusia bisa berada dalam suatu kondisi tertentu seperti konsentrasi terjaga, fokus, mengantuk, atau relaksasi.

Keadaan gelombang otak berbeda pada manusia dan dibagi menjadi 4 bagian yaitu: beta, alpha, theta dan delta (MacGregor, 2001).

1. Gelombang Beta (12 Hz – 19 Hz)

Merupakan keadaan sadar, memiliki jangkauan putaran antara 13-28 per detik. Sinyal yang tinggi menunjukkan dalam keadaan normal dan fokus. Jadi keadaan beta adalah keadaan yang kuat sekali, keadaan pada saat terjaga dan saat perhatian seseorang terbagi. Keadaan ini sangat logis, analitis, dan merupakan keadaan aktif atau bertindak. Inilah keadaan untuk melakukan banyak hal, dan yang ditimbulkan oleh keadaan stres. Gelombang Beta terdiri dari 3 macam gelombang yaitu *high* beta (lebih dari 19 Hz), beta (15Hz-18Hz), dan *low* beta (12Hz-15Hz). *High* beta terjadi ketika dalam keadaan stress atau berada pada tekanan yang cukup tinggi, beta terjadi ketika dalam keadaan normal dan *low* beta muncul ketika berada dalam keadaan santai.

2. Gelombang Alpha (8 Hz – 12 Hz)

Memiliki jangkauan putaran 7-13 per detik. Berada pada keadaan rileks atau tanpa stres, dan sangat penting untuk membuka jalan menuju 88% kekuatan bawah sadar. Saat seseorang berada dalam gelombang alfa, stress seseorang akan hilang dan orang tersebut akan merasa rileks sehingga bisa masuk pikiran bawah sadar. Selain itu pada frekuensi 10 Hz dapat menghasilkan pengontrolan nyeri, rasa relaksasi, serta mengurangi kecemasan.

3. Gelombang Teta (4 Hz – 8 Hz)

Keadaan ini berlangsung pada putaran 3,5-7 per detik. Biasanya disertai oleh keadaan pikiran yang malas atau meditasi yang dalam dan tahap tidur pertama. Keadaan ini adalah keadaan dimana pikiran menjadi kreatif dan inspiratif. Inilah kreativitas yang sebenarnya bisa muncul dan

dapat disebut dengan kondisi sugestif yang tinggi dan keadaan penyembuhan yang kuat. Keadaan teta juga merupakan keadaan dimana kita bisa bermimpi.

4. Gelombang Delta (0,5 Hz – 4 Hz)

Keadaan ini memiliki jangkauan 0,5 Hz-4 Hz. Berada dalam keadaan tidur tanpa mimpi artinya adalah keadaan penyembuhan dan peremajaan sel tubuh. Pada tahap ini, karena kita lebih banyak tidur maka tubuh berusaha menyembuhkan dirinya sendiri, tidak ada pikiran dan istirahat total (MacGregor, 2001).

2.2.4 Hubungan musik dengan otak

Musik sebagai gelombang suara diterima dan dikumpulkan oleh daun telinga masuk ke dalam membran timpani. Oleh membran timpani energi bunyi diperbesar menjadi 25–30 kali (rata-rata 27 kali) untuk menggerakkan medium cair perilimfa dan endolimfa. Setelah itu getaran diteruskan hingga organ korti dalam kokhlea dimana getaran akan diubah dari sistem konduksi ke sistim saraf melalui nervus auditorius (N. VIII) sebagai impuls elektrik. Impuls elektrik musik masuk melalui serabut saraf dari ganglion spiralis korti menuju ke nukleus koklearis dorsalis dan ventralis yang terletak pada bagian atas *medulla*. Pada titik ini semua sinap serabut dan neuron tingkat dua diteruskan terutama ke sisi yang berlawanan dari batang otak dan berakhir di nukleus olivarius superior. Setelah melalui nukleus olivarius superior, penjalaran impuls pendengaran berlanjut ke atas melalui lemniskus lateralis kemudian berlanjut ke kolikulus inferior, tempat semua atau hampir semua serabut ini berakhir. Setelah itu impuls berjalan ke nukleus genikulata medial, tempat semua serabut bersinap, dan akhirnya

berlanjut melalui radasio auditorius ke korteks auditorius, yang terutama terletak pada lobus temporalis (Prasetyo, 2005).

Dari korteks auditorius yang terdapat pada korteks *cerebri area*, jaras pendengaran berlanjut ke sistem limbik. Dari korteks limbik, jaras pendengaran dilanjutkan ke hipokampus yang berbatasan dengan nuklei amigdaloid. Amigdala yang merupakan area perilaku kesadaran yang bekerja padatingkat bawah sadar, menerima sinyal dari korteks limbik lalu menjalarkannya ke hipotalamus. Di hipotalamus yang merupakan pengaturan sebagian fungsi vegetatif dan fungsi endokrin tubuh seperti halnya banyak aspek perilaku emosional, jaras pendengaran diteruskan ke formatio retikularis sebagai penyalur impuls menuju serabut saraf otonom. Serabut saraf tersebut mempunyai dua sistem saraf yaitu sistem saraf simpatis dan sistem saraf parasimpatis. Kedua sistem saraf ini mempengaruhi kontraksi dan relaksasi organ-organ (Prasetyo, 2005).

Relaksasi dapat merangsang pusat rasa ganjangan sehingga timbul ketenangan. Sebagai ejektor dari rasa rileks dan ketenangan yang timbul, *midbrain* akan mengeluarkan *gamma amino butyric acid (GABA)*, enkefalin, β -endorfin. Zat tersebut dapat menimbulkan efek analgesia yang akan mengeliminasi *neurotransmitter* rasa nyeri pada pusat persepsi dan interpretasi sensorik somatik otak (Prasetyo, 2005).

2.2.5 Musik klasik

Musik klasik adalah musik yang berasal dan berkembang di negara barat (Eropa) pada abad pertengahan setelah masehi. Menurut Kamus *New Harvard Dictionary of Music*, istilah klasik berarti yang “serius” dan gaya musik yang berlawanan dengan musik populer (Randel, 1986).

Salah satu musik klasik yang banyak diteliti adalah musik klasik gubahan Mozart. Musik klasik gubahan Mozart selain merangsang kecerdasan dan merangsang kinerja otak kanan, juga merangsang neural plasticity (Campbell dalam Yuwantari, 2011). Dari perkembangan penelitian musik jenis ini, hingga kini dilakukan penelitian tentang efek dari musik tersebut terhadap perilaku dan kesehatan yang dikenal dengan *Mozart Effect*. *Mozart Effect* adalah peningkatan skor penalaran spasial setelah diperdengarkan musik gubahan Mozart yang disebabkan oleh perubahan gairah dan preferensi dari pendengarnya (Rauscher *et al.*, 1998). Musik gubahan Mozart meningkatkan kecepatan tikus menemukan jalan keluar dalam uji perilaku menggunakan *T-Maze* (Rauscher *et al.*, 1998). Musik gubahan Mozart memiliki frekuensi antara 2000-16000 Hz dengan amplitudo 76-100 dB. Pada penelitian ini Mozart jenis Adagio dari Divertimento yang memiliki tempo lambat yaitu 50-55 per menit (Djamil & Tjokronegoro, 2005).

2.2.6 Musik rock

Musik *Rock* termasuk dalam kategori musik populer. Karakteristik musik rock adalah iramanya yang terhentak-hentak, cenderung berupa musik vokal, penggunaan gitar dan penggunaan penguat suara (Randel, 1986). Musik *rock* memberikan efek komponen kognitif terhadap stres, mendengarkan musik menimbulkan perasaan tidak rileks dan cemas (Burns, 2002). Musik *rock* memiliki frekuensi suara hingga 20000 Hz dengan amplitudo 107-116 dB (Staum, 2000; Akiyama & Sutoo, 2010). Hal ini dikarenakan musik rock memiliki irama yang tak teratur mulai awal sampai akhir lagu (Staum, 2000).

2.2.7 Musik tradisional gamelan jawa

Gamelan adalah ensemble musik yang biasanya menonjolkan gambang, gendang, dan gong. Gamelan adalah musik yang tercipta dari paduan bunyi gong, kenong dan alat musik Jawa lainnya. Irama musik yang lembut mencerminkan keselarasan hidup orang Jawa dan menenangkan jiwa begitu didengar (Djohan, 2003).

Berdasarkan hasil analisis, musik gamelan Jawa memiliki pengaruh terhadap emosi pendengarnya. Respon emosi yang menyenangkan dalam gamelan jawa cukup menonjol, melalui stimuli musik yang diperdengarkan dari satu gending laras slendro lima dan satu laras pelog tujuh. Respon emosional yang lebih baik dalam skala evaluasi diri lebih dipandang sebagai terminologi emosi yang menyenangkan berupa rasa lega, senang, gembira, tenang, damai, nyaman, bersyukur, ringan, terharu, bahagia, dan bersemangat (Djohan, 2003). Menurut Tjahyanto *et al.*, (2011), musik gamelan jawa berada dalam frekuensi antara 3500-4500 Hz.

2.3 Tinjauan tentang *Neuroplasticity*

Neuroplasticity merupakan perubahan perilaku pada saraf yang terjadi sebagai bentuk perkembangan, reaksi atau proses adaptasi sel saraf pada kondisi fisiologi dan patofisiologi (Trojan and Pokorny, 1999). *Neuroplasticity* pada dasarnya merupakan suatu mekanisme perbaikan dari kerusakan jaringan di otak (Hallet, 2005). *Neuroplasticity* melibatkan beberapa proses seperti potensiasi sinap, depresi sinap, gangguan pada ekspresi gen dan juga perubahan struktur sinap (Kula,2010). Terjadinya *neuroplasticity* diawali dengan remodelling sel yang dilanjutkan dengan perubahan perilaku sel syaraf (Hallet, 2005; Trojan and Pokorny, 1999). Plasticity yang terjadi dapat memberikan efek positif dan negatif

selama perkembangan (*evolutionary plasticity*), dapat terjadi sebagai akibat adanya stimulasi biologi dalam waktu yang singkat (*reactive plasticity*), maupun stimulasi dalam waktu yang lama atau berulang (*adaptive plasticity*) atau dapat berperan dalam perbaikan struktur dan fungsi neuron yang rusak (*reparation plasticity*) (Trojan dan Pokorny, 1999).

2.3.1 Tinjauan tentang Sinaptogenesis

Sinaptogenesis merupakan proses pembentukan sinap, baik dalam jumlah, struktur maupun fungsi sebagai akibat dari adanya kerusakan atau cedera sistem syaraf. Pembentukan sinap melibatkan berbagai faktor salah satunya adalah thrombospondin (TSP) (Wang, *et al.*, 2012). TSP mengatur sinaptogenesis melalui reseptor $\alpha 2\delta$ -1 dan neuroligin I, memicu proliferasi dan diferensiasi dari *neural progenitor cell* (Wang *et al.*, 2012). Untuk melihat terjadinya proses sinaptogenesis, dapat digunakan marker sinaptofisin. Sinaptofisin (SYP) merupakan kantung glikoprotein neuronal sinaptik yang diekspresikan dalam sel neuroendokrin dan neoplasma dan dapat digunakan sebagai marker untuk diagnosis tumor (Wiedenmann *et al.*, 1986).

2.4 Indra Pendengaran

2.4.1 Anatomi telinga

A. Telinga luar, Telinga Tengah dan Telinga Dalam

Telinga luar terdiri dari daun telinga, lubang telinga, saluran telinga, kelenjar minyak dan selaput gendang. Fungsi telinga luar adalah menangkap rangsangan berupa suara atau bunyi dengan cara menyalurkan gelombang suara ke *meatus auditorius eksternus* (Irianto, 2004). Dari *meatus*, kanalis

auditorium eksternus berjalan menuju membran timpani (Gendang Telinga) (Ganong,2005).

Telinga tengah atau rongga timpani adalah rongga berisi udara di dalam tulang temporalis yang terbuka melalui *tuba auditorius (eustachius)* ke nasofaring dan melalui nasofaring ke luar. Dalam rongga terdapat 3 tulang pendengaran yaitu *malleus, inkus* dan *stapes*. *Manubrium* (tangkai malleus) melekat ke belakang membran timpani. Bagian kepala tulang ini melekat ke dinding tengah dan tonjolannya yang pendek melekat ke inkus, yang kemudian bersendi dengan bagian kepala stapes. Dua otot rangka kecil *tensor timpani* dan *stapedius* juga terletak di telinga tengah (Ganong, 2005).

Telinga dalam disebut labirin atau rumah siput. Labirin tulang merupakan serangkaian saluran di dalam bagian petrosa tulang temporalis. Di dalam saluran-saluran ini terdapat labirin membranosa yang dikelilingi oleh cairan yang disebut endolimfe, dan tidak terdapat hubungan di antara ruang-ruang yang terisi oleh endolimfe dengan cairan yang terisi oleh prelimfe (Ganong, 2005).

B. Koklea

Di dalam koklea terdapat membran basilaris dan membran reissner yang membaginya menjadi 3 ruang yaitu skala vestibuli di bagian atas dan skala timpani di bagian bawah mengandung prelimfe dan berhubungan satu sama lain di apeks koklea melalui lubang kecil yang disebut helikotrema. Skala timpani berakhir di *fenestra roduntum* yaitu dinding medial telinga tengah yang tertutup oleh membran timpani sekunder. Skala media dan ruang koklea tengah bersambungan dengan labirin membranosa serta tidak berhubungan dengan skala lainnya (Ganong, 2005).

C. Organ corti

Struktur ini mengandung sel rambut yang berupa reseptor pendengaran yang terletak di membran basilaris. Tonjolan sel rambut menembus lamina retikularis yang keras dan berbentuk seperti membran yang ditunjang oleh pilar terdapat membran tektoria yang tipis, liat namun elastis yang menutupi bagian sel rambut. Badan sel neuron aferen yang menyebar di sekitar sel rambut terletak di ganglion spiralis di dalam modiulus, bagian tengah yang bertulang tempat koklea melingkar. Akson neuron aferen yang mempersarafi sel rambut membentuk bagian auditorius saraf kranialis ke delapan (Ganong, 2005).

D. Kanalis semisirkularis

Di dalam tulang kanalis terdapat kanalis membranosa yang terbenam dalam prelimfe. Struktur reseptor, krista ampularis terletak di ujung-ujung kanalis membranosa yang melebar (ampula). Setiap krista terdiri dari sel rambut dan sel sustentakularis yang dilapisi oleh pemisah galatinosa (kupula) yang menutup ampula (Ganong, 2005)

E. Urtikulus dan sakulus

Di dalam tiap-tiap labirin membranosa, dilantai urtikulus, terdapat organ otolitik (makula). Makula mengandung sel sustenkularis dan sel rambut, dipayungi oleh membran otolitik tempat terbenamnya kristal-kristal kalsium karbonat, otolit (Ganong, 2005).

F. Jalur sentral

Impuls pendengaran berjalan melalui berbagai rute ke kolikus inferior pusat untuk refleks pendengaran, melalui korpus genikulatum medial di talamus ke korteks auditorik. Di korteks auditorik primer sebagian besar neuron berespon terhadap masukan dari kedua telinga, tetapi mungkin juga terdapat deretan sel yang dirangsang oleh masukan dari telinga

kontralateral dan dihambat oleh masukan dari telinga ipsilateral (Ganong, 2005)

2.4.2 Gelombang suara

Suara adalah sensasi yang timbul apabila getaran longitudinal molekul di lingkungan eksternal yaitu fase pemadatan dan pelonggaran molekul yang terjadi secara bergantian mengenai membran timpani. Secara umum, kekerasan suara berkaitan dengan amplitudo dan nadanya berkaitan dengan frekuensi (jumlah gelombang persatuan waktu). Semakin besar amplitudo, semakin keras suara dan semakin tinggi frekuensi, semakin tinggi nada. Selain itu, frekuensi juga mempengaruhi kekerasan karena ambang pendengaran lebih rendah pada beberapa frekuensi tertentu dibandingkan dengan frekuensi yang lain.

Amplitudo gelombang suara dapat dinyatakan berdasarkan perubahan tekanan maksimum di gendang telinga, tetapi lebih mudah menggunakan skala relatif. Skala decibel adalah salah satunya.

$$\text{Jumlah dB} = \frac{\text{intensitas suara}}{\text{intensitas suara standar}}$$

Frekuensi yang dapat didengar manusia berkisar antara 20 hingga 20.000 siklus perdetik (cps, Hz). Pada hewan lain terutama kelelawar dan anjing, frekuensi yang jauh lebih tinggi dapat didengar. (Ganong, 2005).

2.4.3 Transmisi suara dan mekanisme mendengar

Telinga mengubah suara lingkungan eksternal menjadi potensial aksi di saraf pendengaran, gelombang diubah menjadi gerakan lempeng kaki stapes dan menimbulkan gelombang di cairan telinga dalam, memberi efek pada organ corti menimbulkan potensial aksi (Ganong, 2005).

Gelombang suara bergerak melalui rongga telinga luar yang menyebabkan membran timpani bergetar. Getaran tersebut selanjutnya diteruskan menuju inkus dan stapes, melalui malleus yang terikat pada membran itu. Getaran akan diperbesar karena gerakan-gerakan yang timbul pada setiap tulang. Kemudian disalurkan melalui *fenestra vestibuler* menuju prelimfe. Getaran prelimfe dialihkan melalui membran menuju endolimfe dan saluran kokhlea dan rangsangan mencapai ujung-ujung akhir syaraf alam dalam organ corti, untuk kemudian diantarkan menuju otak oleh *nervus auditorius* (Prasetyo, 2010).

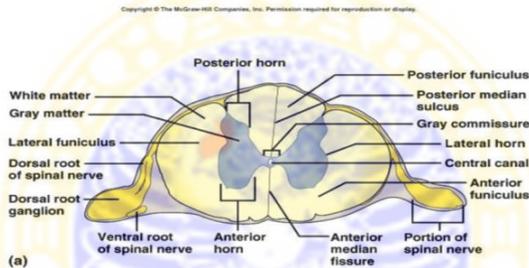
2.5 Morfologi Jaringan *Spinal Cord*

Jaringan *spinal cord* merupakan kumpulan saraf yang mengisi kanal vertebra. *Spinal cord* berawal dari *cranial cavity* ypada *foramen magnum* dan terdiri atas 31 segmen, dimana masing-masing segmen memiliki sepasang saraf spinal. Saraf spinal ini bercabang menuju ke berbagai bagian tubuh dan menghubungkannya dengan sistem saraf pusat (SSP). Setiap neuron terdiri atas badan sel atau perikarion atau soma dan satu akson serta dendrit (Shier *et al.*, 2007).

Pada potongan melintang *spinal cord* tampak berbentuk oval dan lebih lebar di bagian ventral dibandingkan dorsal. *Spinal cord* dikelilingi oleh piameter spinalis hingga ke bagian *ventral median fissure*. Di bagian dorsal, terdapat *dorsal median sulcus* yang tersusun atas neuroglia. Jaringan *spinal cord* tersusun atas bagian dalam yang berwarna kelabu yang disebut *gray matter* dan bagian luar yang berwarna putih yang disebut *white matter* (Coepenhaver *et al.*, 1978; Snell, 1984). *Gray matter* tersusun pada *spinal cord* dengan bentukan seperti huruf “H”. Bagian dorsal dari *gray matter* memanjang hingga hampir ke ujung permukaan *spinal cord* dan

disebut *posterior horns*, sedangkan bagian ventralnya lebih pendek dan dikenal dengan *anterior horns*. *White matter* terbagi oleh *gray matter* menjadi dua bagian, yaitu *dorsal funiculus* yang berada diantara kedua *posterior horns*. Ventrolateral funiculus dibagi lagi menjadi dua bagian oleh anterior horns menjadi *lateral funiculus* dan *ventral funiculus* (Copenhaver *et al.*, 1978).

Cross Section of Spinal Cord



11-7

Gambar 2.1 Potongan melintang jaringan spinal cord (Anonim², 2008)

2.5.1 Gray matter

Pada bagian tengah dari *gray matter* terdapat suatu kanal yang disebut kanal sentral. Kanal sentral membagi *gray matter* menjadi dua dan menghubungkan kedua bagian dari *spinal cord* pada suatu *ventral gray commissure* dan *dorsal gray commissure* (Coepenhaver *et al.*, 1978). *Gray matter* tersusun atas badan sel saraf yang tersusun secara longitudinal, dimana *dorsal horns* bertanggungjawab terhadap aktivitas motor (Coepenhaver *et al.*, 1978; Shier *et al.*, 2007). Dendrit yang muncul dari badan sel pada *gray matter* merupakan multipolar dimana dendrit akan

memanjang beberapa milimeter ke atas atau ke bawah dari kolom *spinal cord* untuk menerima stimulus lokal (di dalam *spinal cord* sendiri) atau stimulus interneuron (Coepenhaver *et al.*, 1978). Besar kecilnya porsi *gray matter* pada tiap kolom *spinal cord* sangat tergantung dari beberapa banyak organ yang diinervasi. Oleh karena itu bagian *gray matter* yang terbesar terdapat pada *cervical* dan *lumbosacral* (Snell, 1984).

2.5.2 White matter

Guna menghantarkan stimulus dari *gray matter* menuju ke kolom lain dari *spinal cord* dan bahkan menuju ke otak maka harus ada serabut saraf yang naik atau turun sepanjang *spinal cord*. Serabut saraf ini meninggalkan *gray matter* melewati *white matter*, oleh karena itu *white matter* mengandung akson termielinasi maupun tidak termielinasi, neuroglia, serta pembuluh darah dan bagian dari piameter yang menyelubungi *ventral median fissure* (Copenhaver *et al.*, 1978). Pada *white matter* tidak terdapat badan sel maupun akson. Warna putih pada *white matter* muncul dari banyaknya akson yang termielinasi (Snell, 1984). Pada bagian ventral dari *ventral gray commissure* terdiri dari serabut saraf termielinasi sedangkan pada bagian dorsal dari *dorsal gray commissure* terdapat *dorsal white commissure* yang juga mengandung serabut saraf termielinasi. Serabut saraf pada kedua *white commissure* ini bertanggung jawab untuk menghubungkan antar bagian dari *spinal cord* (Copenhaver *et al.*, 1978)

Inti sel dan komposisi protein sel dapat dideteksi dengan pewarnaan *haematoxyllin-eosin* (HE). Inti sel dan ribosom bereaksi dengan *haematoxyllin* membentuk warna biru, sedangkan *eosin* memberikan warna merah muda pada protein. Pada pewarnaan jaringan sumsum tulang

belakang, badan sel yang terdapat di dalam *substansia grisea* akan memberikan warna merah muda setelah bereaksi dengan *eosin* (Copenhaver *et al.*, 1978).

2.6 Hewan percobaan

Hewan coba merupakan hewan yang dapat digunakan untuk tujuan suatu penelitian yang meliputi hewan laboratorium hingga hewan jenis ternak. Pada umumnya, penelitian eksperimental (penelitian biomedik dan uji farmakologi), digunakan hewan yang dipelihara di laboratorium. Perencanaan penggunaan hewan coba dan pemilihan jenis hewan coba yang akan digunakan sama pentingnya dengan perencanaan tahapan eksperimen lainnya. Tahap pertama yang diperlukan pada penentuan jenis hewan coba yang akan digunakan adalah menentukan spesifikasi tipe yang diperlukan meliputi seleksi spesies, seleksi *strain*, dan seleksi kualitas kesehatan hewan coba (Bleby&Festing, 1974; Kusumawati, 2004). Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penelitian dengan hewan coba yaitu :

1. Kemiripan sistem fisiologi, sehingga hendaknya hewan coba yang digunakan memiliki kemiripan sistem fisiologi dengan manusia.
2. Kesesuaian pemilihan hewan coba, hendaknya dipilih yang sesuai dengan tujuan penelitian. Kesesuaian ini meliputi spesies tertentu, anatomi, biologi, reproduksi, nutrisi dan genetik.
3. Kesehatan hewan coba, dimana hewan coba dalam keadaan sehat (tidak menjadi *host* dari penyakit serta bebas dari penyakit) agar tidak menimbulkan kesalahan dalam proses penelitian serta tidak menyebabkan sumber penularan penyakit. Hewan coba dipilih dengan kriteria dewasa, muda dan sehat.

4. Hewan coba hendaknya dipilih dengan karakteristik peranakan (*breeding*) yang cepat.
5. Penanganan, penyimpanan dan perawatan hewan coba relatif lebih mudah sehingga efisien dalam hal biaya.

Pada penelitian ini dipilih mencit (*Mus musculus*) karena didasarkan atas kesesuaian model hewan coba dengan tema penelitian, kemiripan sistem fisiologis mencit dengan sistem fisiologis manusia, mencit memiliki ukuran yang kecil serta penanganan dan pengendalian mencit lebih mudah dalam hal kebutuhan nutrisi dan pemeliharaan (Bleby&Festing; 1974; Kusumawati, 2004).

2.7 Metode Pengujian Nyeri pada Hewan Coba

2.7.1 Metode pengujian efek analgesik

Pengujian efek analgesik ditujukan untuk melihat efek analgesia dari suatu senyawa obat yang diujikan pada hewan coba dalam kondisi sadar. Studi eksperimental pada hewan coba dalam kondisi sadar didesain sebagai “studi perilaku”. Perilaku yang dimaksud adalah perilaku dari hewan coba termasuk refleks *withdrawal* sebagai respon atau rangsangan yang diberikan pada hewan tersebut. Efek analgesia dari senyawa obat dinilai dari kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan respon nyeri dari induksi yang dilakukan pada hewan coba. Daya kerja analgesik pada hewan dievaluasi dengan :

1. Mengukur besarnya peningkatan stimulus nyeri yang harus diberikan sampai timbulnya respon nyeri.
2. Jangka waktu ketahanan terhadap stimulus nyeri (rangsangan termal seperti *hot plate test, tail flick test, summer stimulation test*).

3. Peranan frekuensi respon nyeri (rangsangan kimiawi seperti penggunaan formalin, *capsaicin*, larutan asam atau listrik). (Le Bars *et al.*, 2001).

2.7.2 Metode pengujian antiinflamasi

Ada beberapa metode yang diperkenalkan untuk mengevaluasi efek antiinflamasi suatu senyawa yaitu :

1. Metode induksi inflamasi pada telapak kaki dengan bahan kimia

Efek antiinflamasi dideteksi dari kemampuan mengurangi atau mencegah inflamasi (Turner, 1965). Beberapa senyawa dapat digunakan untuk menghasilkan kondisi inflamasi pada telapak kaki hewan coba yaitu formalin, putih telur, dextran, mustard, dan karagenan.

2. Metode implantasi pellet

Metode ini dilakukan dengan mengimplantasi pellet asbestos pada daerah dorsal hewan coba. Dua jam setelah operasi hewan coba diberikan injeksi senyawa yang akan diuji. Pada hari ke-6, hewan coba dimatikan dan berat pellet yang telah disertai jaringan granuloma dikeluarkan dan ditimbang (Turner, 1965)

3. Metode kantong granuloma

Metode ini diawali dengan injeksi subkutan 25 mL udara, dilanjutkan injeksi 0,5 mL larutan 1% minyak *Croton* pada daerah yang sama. Pada hari kedua, udara dihilangkan dari tempat injeksi sehingga terbentuk kantong. Pada hari ketiga, kantong dikompresi secara manual untuk menghindari adhesi. Pada hari keempat, kantong yang terbentuk dibuka dan cairan eksudat diaspirasi. Volume cairan eksudat diukur dan dibandingkan antara kelompok perlakuan dan kontrol (Turner, 1965).

4. Metode eritema

Metode ini dirancang untuk mengetahui aktivitas senyawa antiinflamasi yang akan diuji dalam mengurangi eritema. Induksi eritema dilakukan dengan radiasi ultraviolet selama 20 detik. Pemberian senyawa uji dilakukan 30 menit sebelum radiasi dan pengamatan dilakukan 2 jam setelah radiasi. Derajat eritema dinyatakan dengan angka 0-4 (Turner, 1965).

5. Metode induksi oleh mikroba (*Freund's Adjuvant*)

Terdapat dua macam *Freund's Adjuvant*, *Incomplete Freund's Adjuvant* (IFA) atau *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). CFA adalah campuran mikobakteria yang telah mati berupa emulsi air dalam minyak. Fase minyak yang dapat digunakan antara lain *paraffin liquidum*, *mineral oil*, minyak sayur (Turner, 1965). CFA mengandung komponen dinding sel mikobakteri yang biasanya adalah *Mycobacterium tuberculosis* atau *Mycobacterium butyricum* yang biasanya digunakan untuk imunopotensiasi. Induksi dengan CFA dapat menyebabkan inflamasi perifer yang persisten. Keberhasilan induksi ditandai dengan peningkatan tebal plantar dan penurunan waktu ketahanan terhadap panas. Penurunan waktu ketahanan terhadap stimulus panas mulai terlihat pada hari ke-3 setelah injeksi. Terjadinya penurunan waktu ketahanan terhadap stimulus panas menunjukkan terjadinya hiperalgesia yang merupakan tanda berkembangnya inflamasi. Peningkatan tebal plantar juga terjadi pada tempat injeksi CFA yang mulai terlihat pada hari ke-1 dan mencapai puncak pada hari ke-7 setelah injeksi CFA serta bertahan hingga hari ke-14 (Luo *et al.*, 2004; Susilo, 2010).

Konsentrasi mikobakteri dalam emulsi CFA yang beredar adalah 0,5 mg/mL. Pemberian dengan dosis > 0,5 mg/mL harus melalui persetujuan dari *Institutional Animal Care and Use Commite* (IACUC). Saat digunakan, CFA harus diresuspensi dengan menggunakan vortex atau mengocok ampul/vial kemudian CFA dikeluarkan dari wadah primernya dengan teknik aseptis. CFA tidak boleh diinjeksikan secara intradermal sebab dapat menyebabkan ulcer yang permanen dan nekrosis kulit kecuali setelah dilakukan rasionalisasi secara ilmiah dan tidak boleh diberikan secara intravena karena dapat menyebabkan penyumbatan pembuluh darah. Keadaan patologi yang lebih ringan muncul pada injeksi secara intramuskular, sehingga penggunaan melalui rute ini diperbolehkan. Injeksi subkutan, pada salah satu telapak kaki (*footpad*) ataupun injeksi intraperitoneal diperbolehkan untuk injeksi CFA (Anonim¹, 2008).

Volume CFA yang direkomendasikan oleh IACUC dengan berbagai rute tertera pada tabel II.1 berikut:

Spesies	Rute Pemberian				
	Subkutan (mL)	Intradermal (mL)	Intraperitoneal (mL)	Footpad (mL)	Intramuskular (mL)
Mencit	<0,1	*	<0,2	<0,05**	<0,05
Tikus	<0,1	<0,05**	<0,05	<0,1	<0,1
Kelinci	<0,25	<0,05**	*	*	<0,25***
Kambing	<0,1	<0,1**	*	NA	<0,5

Tabel II.1 Volume rekomendasi Emulsi Antigen CFA (CFA-AE) pada tiap tempat injeksi dan rute administrasi (Anonim¹, 2008)

Keterangan :

- * Tidak direkomendasikan
 - ** Hanya jika dilakukan penyesuaian
 - *** Dapat dilakukan tanpa penyesuaian hanya pada tungkai
- NA Tidak diperbolehkan

2.8 Tinjauan Immunohistokimia

Immunohistokimia (*Immunochemistry*, ICH) merupakan perpaduan antara reaksi imunologi dengan kimiawi. Reaksi imunologi ditandai dengan adanya reaksi antigen dan antibodi (Haryanto, 2005).

IHC adalah suatu teknik yang terintegrasi dalam laboratorium untuk tujuan diagnosa dan penelitian. Konsep yang mendasari IHC ini yaitu adanya ikatan antara antigen dalam jaringan dengan antibodi yang spesifik. Pada waktu terjadi ikatan antigen-antibodi maka dapat diamati reaksi warna histokimia yang tampak pada mikroskop cahaya atau mikroskop fluorokrom dengan sinar UV. Reaksi antigen-antibodi tidak dapat diamati pada mikroskop cahaya kecuali terdapat label di sana. Oleh karena itu, senyawa pelabel (*reported molecules*) harus dapat terikat pada antibodi baik primer, sekunder, atau tersier sehingga sistem deteksi dapat memvisualisasikan relaksasi imun ini. Senyawa pelabel yang biasa digunakan yaitu enzim (seperti *peroksidase*, *alkalin fosfatase*, *glukosa osidase*). Enzim yang berada pada substrat spesifik dan kromogen akan menghasilkan warna pada tempat reaksi antigen-antibodi. Seleksi terhadap sistem deteksi ini sangat penting dan bergantung pada reaksi imun yang sensitif. Sistem deteksi ini terdiri dari dua metode yaitu metode langsung dan tidak langsung (Ramos-Vara, 2005).

Metode langsung merupakan metode yang paling sederhana dan hanya terdiri dari satu langkah proses yaitu konjugasi antibodi dengan

senyawa pelabel. Beberapa pelabel telah banyak digunakan meliputi fluorokrom, enzim, emas koloid, dan biotin. Metode ini cukup cepat tetapi kurang sensitif terhadap deteksi kebanyakan antigen pada jaringan yang diproses secara rutin (Ramos-Vara, 2005)

Metode tidak langsung terdiri dari dua langkah yaitu, pertama digunakan antibodi yang tidak berlabel lalu yang kedua direaksikan dengan antibodi berlabel. Sensitifitas dari metode ini lebih tinggi karena sinyal yang dihasilkan cukup kuat serta jumlah senyawa pelabel per molekul dari antibodi primer lebih tinggi sehingga meningkatkan intensitas reaksi. Beberapa contoh metode ini yaitu *Avidin-biotin method*, *Peroxidase-antiperoxidase (PAP) method*, *Polymeric labelling two step method*, *Tyramine amplification method*, dan sebagainya (Ramos-Vara, 2005).

Imunohistokimia memegang peranan penting tidak hanya dalam diagnosis beberapa infeksi virus, tapi juga dalam studi patogenesis dan epidemiologinya. Imunohistokimia cukup sensitif dan spesifik dalam mendeteksi infeksi dari virus, jamur, protozoa, serta agen penyebab penyakit berat dan kronis lainnya (Bueren, 2009).