

1. EPINEPHRINE

2. HYDROKORTISON

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KIK
TKD 05/011
Damm
P

TESIS

**PENGARUH HIDROKORTISON DAN ADRENALIN
TERHADAP POLA RESPON MOBILISASI
SEL IMUNOKOMPETEN DALAM
DARAH TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

RATNA DAMAYANTI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2000**

**PENGARUH HIDROKORTISON DAN ADRENALIN
TERHADAP POLA RESPON MOBILISASI
SEL IMUNOKOMPETEN DALAM
DARAH TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**



PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

RATNA DAMAYANTI

NIM. 099712502 M

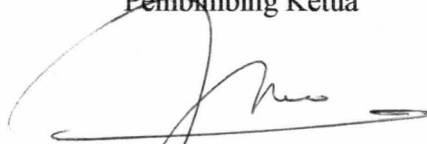
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2000**

Lembar Pengesahan

Tesis ini telah disetujui pada tanggal : 14 Juli 2000

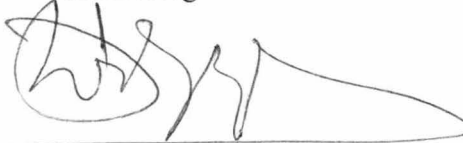
Oleh :

Pembimbing Ketua



Dr. Sunarko Setyawan, dr, MS
NIP. 131 949 832

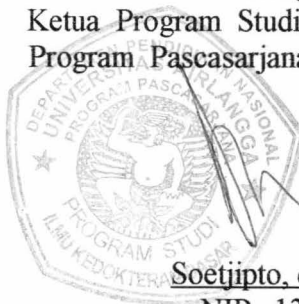
Pembimbing



Ngakan Made Rai Widjaja, drh, MS
NIP. 130 687 557

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Soetjipto, dr, MS, Ph.D
NIP. 130 687 606

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Paulus Liben dr, MS

Anggota : 1. Dr. Sunarko Setyawan, dr,MS
2. Ngakan Made Rai Widjaja, drh, MS
3. Choesnan Effendi, dr, PFK
4. Tjitra Wardhani, dr, MS

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmaanirrahiim

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT atas segala karunia dan rahmatNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini setelah menempuh penelitian dan penulisan.

Menyadari bahwa tesis ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dan peran serta berbagai pihak maka perkenankan penulis dengan setulus hati mengucapkan terima kasih kepada Yth :

Rektor Universitas Airlangga, Prof. dr. H. Soedarto, DTM&H,Ph.D;
Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Dr. dr. H. Muhammad Amin; Mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. dr. H. Soedijono; Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, dr. Soejipto, MS,Ph.D; Mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Prof. Dr. dr. Juliati Hood A., MS, Sp.PA, FIAC; Ketua Minat Ilmu Faal Program Pascasarjana Universitas Airlangga, dr. Choesnan Effendi, PFK dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Dr. drh. Ismudiono, MS serta Ketua Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. dr. Martin Setiabudi, Ph.D, yang telah memberikan kesempatan penulis untuk menempuh dan menyelesaikan studi di Program Magister ini.

Dr. dr. Sunarko Setyawan, MS dan drh. Ngakan Made Rai Widjaja, MS, selaku pembimbing yang telah banyak menyediakan waktu untuk membimbing, mengoreksi dan memberi saran serta pengarahan pada penulis dalam pelaksanaan penelitian serta penyusunan tesis ini.

Ibunda tersayang, bapak dan ibu mertua serta kakak-kakak dan adik-adikku tersayang yang selalu memberi dorongan dan semangat serta selalu berdoa dengan ketulusan hati demi keberhasilan pendidikan penulis.

Suami tercinta, Abdul Haris Hakim, yang setia mendampingi penulis, atas pengorbanan waktu dan senantiasa memberi semangat guna membantu penulis menyelesaikan tesis ini.

Seluruh Staff Pengajar beserta seluruh karyawan di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, tempat penulis menempuh studi.

Semua pihak yang ikut membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang tidak dapat penulis sebut namanya satu persatu.

Akhirnya dengan segenap kerendahan hati penulis sebagai manusia biasa mohon maaf atas segala kekurangan.

Surabaya, Juli 2000

Penulis

RINGKASAN

Penelitian ini bermula dari keingintahuan peneliti mengenai hormon adrenalin dan hormon glukokortikoid yang dapat mengakibatkan mobilisasi sel imunokompeten dengan tujuan homeostasis pada saat stres. Dari penelitian-penelitian yang terdahulu belum nampak adanya upaya untuk menetapkan pola respon mobilisasi sel imunokompeten terhadap kedua hormon tersebut, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pola respon mobilisasi sel imunokompeten dalam darah akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison maupun kombinasi hidrokortison dan adrenalin. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Randomized Posttest Only Control Group Design*.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 40 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) jenis Sprague-Dawley berumur tiga bulan, yang dibagi secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan dengan 10 ulangan. Adapun perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut : kontrol diberi aquabidest 0,18 ml (K1), pemberian adrenalin 0,009 mg/0,18 ml aquabidest (K2), pemberian hidrokortison 1,8 mg/0,18 ml aquabidest (K3) , pemberian kombinasi adrenalin 0,009 mg/0,09 ml aquabidest dan hidrokortison 1,8 mg/0,09 ml aquabidest (K4), yang kesemuanya diberikan secara intramuskular. Hewan di anastesi dengan eter sebelum diambil darahnya. Sampel darah diambil secara intrakardial setelah tiga puluh menit perlakuan sebanyak tiga ml dan ditampung dalam tabung reaksi yang sudah berisi EDTA.

Data penelitian dianalisis dengan Manova untuk melihat adanya beda respon mobilisasi sel imunokompeten antar perlakuan, dan dilanjutkan dengan analisis

diskriminan sehingga ditemukan tiga variabel pembeda yang kuat yaitu : eosinofil, neutrofil dan limfosit. Harga kontribusi diskriminan yang didapat dari koefisien diskriminan dikalikan rerata dari masing-masing variabel pembeda akan diwujudkan dalam bentuk pola yang dapat mencerminkan kontribusi ketiga variabel tergantung tersebut terhadap mekanisme fisiologis yang terjadi di dalam tubuh.

Berdasarkan hasil uji perbedaan antar kelompok perlakuan menunjukkan bahwa adrenalin mengakibatkan turunnya eosinofil, neutrofil dan limfosit. Hidrokortison tidak berpengaruh terhadap eosinofil, neutrofil dan limfosit. Kombinasi adrenalin dan hidrokortison hanya mengakibatkan turunnya neutrofil dan limfosit.

Berdasarkan gambaran pola respon mobilisasi dapat dibuktikan bahwa pengaruh adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin dan hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil yang berbeda ($p < 0,05$). Sehingga berdasarkan gambaran pola respon mobilisasi tersebut dapat disimpulkan bahwa adrenalin mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada eosinofil dan tertinggi pada limfosit. Hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada eosinofil dan tertinggi pada neutrofil. Sedangkan kombinasi adrenalin dan hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada neutrofil dan tertinggi pada limfosit.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine response pattern of immunocompetent cells mobilization due to the influence of adrenaline, hydrocortisone, and combination of both. This was a laboratory experimental study using Randomized Posttest Only Control Group Design.

Experimental animals used were 40 male Sprague-Dawley strain *Rattus norvegicus* of three months old, divided randomly into 4 treatment groups with 10 repetitions. Treatments given were as follows : aquabidest 0.18 ml (K1), adrenaline 0.009 mg (K2), hydrocortisone 1.8 mg (K3), combination of adrenaline 0.009 mg and hydrocortisone 1.8 mg (K4), all given intramuscularly. The animals were anaesthetized with ether. Samples taken 3 ml intracardially after treatment and collected into reaction tube filled with EDTA.

Data was analyzed using Manova and discriminant analysis, so that three significant discriminant variables were found, i.e. neutrophil, lymphocyte, and eosinophil. Result showed that response patterns of neutrophil, lymphocyte, and eosinophil due to influence of adrenaline, hydrocortisone, and combination of both adrenaline and hydrocortisone were different ($p < 0.05$).

Based on the appearance of mobilization response pattern, it can be concluded that the influence of adrenaline cause the lowest mobilization response pattern in eosinophil and lymphocyte has the highest. Hydrocortisone cause the lowest mobilization response pattern in eosinophil and neutrophil has the highest. The combination of both cause the lowest mobilization response pattern in neutrophil and lymphocyte has the highest.

Keywords : *adrenaline, hydrocortisone, mobilization response pattern, immunocompetent cells.*

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sistem Ketahanan Tubuh Immunologik	5
2.2 Komponen Sel Ketahanan Tubuh	6
2.2.1 Granulosit Polimorfonuklear.....	6
2.2.2 Monosit	9
2.2.3 Limfosit dan sistem limfoid	10
2.3 Mobilisasi Sel Imunokompeten.....	12
2.3.1 Resirkulasi Sel Imunokompeten.....	13
2.3.2 Migrasi Sel Imunokompeten	14
2.4 Hidrokortison	17
2.5 Adrenalin	20
2.6 Efek Hidrokortison terhadap Mobilisasi Sel Imunokompeten dalam Darah	22
2.7 Efek Adrenalin terhadap Mobilisasi Sel Imunokompeten dalam Darah	25
2.8. Efek Kombinasi Hidrokortison dan Adrenalin terhadap Mobi- lisasi Sel Imunokompeten dalam Darah	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual.....	27
3.2 Hipotesis	30
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	31
4.2 Populasi, Tehnik Sampling dan Sampel	32
4.2.1 Populasi	32

4.2.2 Teknik Sampling	32
4.2.3 Sampel	32
4.3 Variabel Penelitian	32
4.3.1 Variabel bebas (perlakuan)	32
4.3.2 Variabel tergantung	33
4.3.3 Variabel kendali	33
4.3.4 Variabel moderator.....	33
4.3.5 Definisi Operasional	34
4.4 Bahan Penelitian.....	34
4.5 Instrumen Penelitian.....	34
4.6 Pelaksanaan Penelitian	35
4.7 Tahapan Analisis Data	36
 BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	 38
5.1 Hasil Uji Homogenitas	38
5.2 Hasil Uji Multivariat.....	39
5.3 Hasil Uji Diskriminan	40
5.4 Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok Perlakuan	41
5.5 Penetapan Pola.....	42
 BAB 6 PEMBAHASAN.....	 44
 BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	 51
7.1 Kesimpulan.....	51
7.2 Saran.....	52
 DAFTAR PUSTAKA	 53
 LAMPIRAN.....	 58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Data rerata dan standar deviasi variabel moderator pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison.....	38
Tabel 5.2 Data rerata dan standar deviasi variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison.....	39
Tabel 5.3 Hasil analisis univariat variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison.....	40
Tabel 5.4 Hasil uji diskriminan variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison.....	41
Tabel 5.5 Koefisien diskriminan (Fischer) variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin- hidrokortison.....	41
Tabel 5.6 Signifikansi neutrofil melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan.....	41
Tabel 5.7 Signifikansi limfosit melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan.....	42
Tabel 5.8 Signifikansi eosinofil melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan.....	42
Tabel 5.9 Data kontribusi diskriminan pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Resirkulasi Limfosit	14
Gambar 2.2 Struktur Kimia Kortisol	17
Gambar 2.3 Struktur Kimia Adrenalin.....	20
Gambar 5.1 Diagram pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil dalam darah akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison, kombinasi adrenalin-hidrokortison pada tikus putih.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Rumus menentukan jumlah sampel	58
Lampiran 2. Penentuan jumlah sampel penelitian.....	59
Lampiran 3. Teknik Flow Cytometry Technicon H-3 (TH-3).....	60
Lampiran 4. Komposisi normal darah tikus putih dewasa.....	61
Lampiran 5. Cara menentukan dosis.....	62
Lampiran 6. Data asli penelitian.....	63
Lampiran 7. Uji Anava pada variabel moderator (leukosit, eritrosit, haemoglobin, hematokrit dan berat badan).....	65
Lampiran 8. Uji Manova pada variabel tergantung (neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil dan basofil)	71
Lampiran 9. Hasil uji diskriminan	73
Lampiran 10. Pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison, kombinasi adrenalin dan kortison	81

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Masalah

Sampai sejauh ini telah diketahui bahwa hormon glukokortikoid dan hormon adrenalin merupakan hormon yang tersekresi pada saat seseorang mengalami stres sebagai upaya homeostasis (Vander *et al.*, 1994). Stres diketahui dapat menyebabkan leukositosis. Fenomena tersebut disebabkan oleh mobilisasi sel imunokompeten ke dalam darah yang terjadi sebagai reaksi tubuh terhadap *stressor*. Pemberian hormon glukokortikoid maupun hormon adrenalin juga dapat menyebabkan leukositosis (Toft *et al.*, 1993), namun mekanisme mobilisasi jenis sel imunokompeten tersebut belum diungkap jelas.

Penelitian-penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa mobilisasi basofil, eosinofil, neutrofil, monosit dan limfosit akibat pemberian glukokortikoid secara intravena (Claman, 1983 dalam Stites *et al.*, 1997) dan prednison (sintetik glukokortikoid) secara oral (Bellanti, 1985) akan mencapai maksimum setelah empat sampai enam jam pasca pemberian. Selanjutnya setelah 24 jam proporsinya akan kembali normal. Crary *et al.*, (1983b) telah membuktikan adanya perubahan proporsi sel imun akibat pengaruh adrenalin yang diberikan secara subkutan terhadap sel mononuklear pada manusia terutama proporsi subset limfosit. Peningkatan limfosit terlihat mencapai puncaknya tiga puluh menit setelah pemberian, dan akan kembali normal setelah dua jam. Pemberian ekstrak korteks adrenal dan adrenalin secara simultan telah dibuktikan dapat mengakibatkan

perubahan proporsi eosinofil dalam darah tepi (Jain, 1986). Brohee *et al.*, (1990) juga telah membuktikan bahwa mobilisasi leukosit sudah terjadi sepuluh menit setelah pemberian kombinasi adrenalin dan hidrokortison secara intravena pada manusia yang sehat.

Penelitian-penelitian tersebut diatas hanya mengungkap adanya mobilisasi sel imunokompeten akibat pemberian adrenalin dan glukokortikoid maupun kombinasi dari keduanya dengan mengukur kadar sel imunokompeten darah, tetapi belum nampak adanya upaya untuk mengungkap proporsi respon sel imunokompeten terhadap adrenalin dan glukokortikoid. Dalam penelitian ini ingin diketahui pengaruh adrenalin dan hidrokortison sebagai mediator kimia yang berperan sebagai aspek yang memobilisasi sel imunokompeten ke dalam darah dengan mengetahui proporsi respon sel imunokompeten yang termobilisasi. Data penelitian akan dianalisis secara multivariat atas dasar konsep imunoneuroendokrinologi yang akan dicerminkan dalam bentuk pola. Selanjutnya pola respon mobilisasi sel imunokompeten tersebut akan menggambarkan besarnya kontribusi masing-masing sel imunokompeten akibat pemaparan adrenalin dan hidrokortison (Adomian *et al.*, 1984; Sharma, 1996). Dengan adanya pola respon mobilisasi sel imunokompeten tersebut, diharapkan dapat menunjang mekanisme efek obat atau hormon ini terhadap masing-masing sel imunokompeten, sehingga dapat bermanfaat dalam aplikasi klinisnya .

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan pola respon mobilisasi sel imunokompeten dalam darah antara pengaruh adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin dan hidrokortison ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mendapatkan pola respon mobilisasi limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil dalam darah akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin dan hidrokortison .

1.3.2 Tujuan khusus

Menetapkan perbedaan pola respon mobilisasi limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil dalam darah akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin dan hidrokortison.

1.4. Manfaat

1. Untuk mendapatkan dasar kajian mengenai reseptor adrenalin dan hidrokortison terhadap mobilisasi sel imunokompeten ke dalam darah.

2. Mendapatkan dasar kajian imunoendokrinologi pada sel imunokompeten akibat paparan stressor farmakologik.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Ketahanan Tubuh Immunologik

Sistem ketahanan tubuh imunologik merupakan bagian dari sistem homeostasis yang dapat memberikan rangkaian respon imun untuk stabilitas antar sistem dalam tubuh (Vander *et al.*, 1994). Ketahanan tubuh imunologik mencakup semua mekanisme fisiologis tubuh yang membantu untuk mengenali benda-benda asing, menetralkan dan mengeliminasi serta memetabolisme benda asing tersebut dengan atau tanpa merusak jaringannya sendiri (Bellanti, 1985). Respon imun dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu : (1) respon imun nonspesifik dan (2) respon imun spesifik. Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut, misalnya pada fagositosis dan inflamasi. Sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat (*acquired/adaptive*) yang timbul terhadap antigen tertentu, dimana tubuh pernah terpapar sebelumnya, yang dilakukan oleh sel-sel dan jaringan limfoid yang terdapat dalam sistem limforetikular.

Respon imun menurut pendapat modern menjalankan tiga fungsi utama, yaitu pertahanan (*defense*), homeostasis dan perondaan (*surveillance*) (Bellanti, 1985). Kondisi stres berhubungan erat dengan respon imun. Pada saat stres, terjadi respon imun yang lebih bertujuan untuk mengembalikan keadaan individu pada keadaan homeostasis (Locke, 1982 dalam Miller dan Norin, 1989).

2.2. Komponen Sel Ketahanan Tubuh

Sel-sel darah yang terlibat dalam respon imun diturunkan dari *pluripoten haemotopoietik stem cell* (Sigal dan Ron, 1994). *Stem cell* tersebut kemudian berdiferensiasi menjadi dua jalur yang berlainan, yaitu jalur mieloid dan jalur limfoid. Jalur mieloid terdiri dari granulosit polimorfonuklear (neutrofil, basofil, sel mast, dan eosinofil), monosit, makrofag dan megakariosit/ platelet. Sedangkan jalur limfoid terdiri dari limfosit T, limfosit B dan sel NK (Norin, 1989; Roitt *et al.*, 1996). Limfosit, neutrofil, eosinofil, basofil dan monosit merupakan unit yang aktif pada sistem imunitas, sehingga diberi nama sel imunokompeten. Sel imunokompeten tersebut dapat dipergunakan sebagai indikator kualitas ketahanan tubuh. Indikator ketahanan tubuh yang *innate* akan diwakili oleh basofil, eosinofil, neutrofil dan monosit, sedangkan indikator ketahanan tubuh yang *adaptive* dapat ditunjukkan dengan limfosit (Kubby, 1992; Roitt *et al.*, 1996). Kebanyakan dari sel-sel tersebut di dalam aliran darah bersifat non fungsional dan bilamana diperlukan akan secara khusus diangkut menuju ke jaringan yang mengalami peradangan (Ganong, 1999). Pengaruh fisiologis (misalnya : *exercise*, stres), imunologis (adanya imunogen) dan patologis dapat mengakibatkan perubahan proporsi sel imunokompeten di dalam darah (Hay dan Andrade, 1998).

2.2.1 Granulosit Polimorfonuklear

Granulosit Polimorfonuklear (PMN) berdasarkan pengecatan granula dalam sitoplasmanya, dapat dibedakan menjadi tiga macam sel, yaitu neutrofil, basofil dan

eosinofil. PMN di dalam sirkulasi darah berjumlah 60-70%, sedangkan sisanya mengalami ekstrasvasasi (Male, 1991). PMN mempunyai umur yang singkat, kira-kira hanya dua sampai tiga hari saja (Roitt *et al.*, 1996). PMN diproduksi di sumsum tulang dengan kecepatan 80 juta per menit dan PMN cadangannya juga tersimpan di dalam sumsum tulang (Kresno, 1996).

Neutrofil

Neutrofil merupakan dominan leukosit dalam darah, jumlahnya kira-kira 90% dari seluruh jumlah leukosit. Neutrofil mempunyai dua macam tipe granula. Tipe granula yang pertama adalah lisosom, yang berisi asam hidrolase, mieloperoksidase dan muramidase (lisosim). Tipe granula yang kedua berisi laktoferin dan lisosim. Kedua tipe granula diatas mempunyai kemampuan merusak organisme secara fagositosis (Roitt *et al.*, 1996).

Masa hidup dari neutrofil dibagi menjadi tiga fase : fase intramedular, fase intravaskular dan fase jaringan. Pada fase intramedular, neutrofil dan prekursornya di dalam sumsum tulang dapat dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan morfologi sel dan karakteristik kinetiknya, yaitu kelompok proliferaatif terdiri dari mieloblast, promielosit dan mielosit. Kelompok maturatif terdiri metamielosit dan *band cell*, sedangkan kelompok penyimpanan atau cadangan terdiri dari neutrofil yang matur. Pada fase intravaskular, neutrofil dibagi menjadi kelompok sirkulasi (*circulating pool*) dan kelompok marginasi (*marginating pool*), yang bila digabung merupakan jumlah total granulosit dalam darah. Periode neutrofil di dalam sirkulasi hanya sekitar empat sampai delapan jam (Kresno, 1996). Pada fase jaringan , neutrofil masuk ke dalam jaringan secara diapedsis melalui *intercellular junctions* dari endotel

pembuluh darah. Neutrofil di dalam jaringan dapat hidup dalam beberapa hari (Bellanti, 1985).

Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama terhadap infeksi. Beberapa jam sesudah dimulainya radang akut, di dalam darah akan terjadi kenaikan jumlah leukosit empat sampai lima kali lipat. Neutrofil dapat bergerak menuju daerah inflamasi karena dirangsang oleh faktor kemotaktik yang dilepaskan oleh komplemen dan limfosit yang teraktivasi (Lehler *et al.*, 1988).

Sumber energi utama dari neutrofil (kira-kira 90%) berasal dari glikolisis anaerobik, sedangkan 10% sisanya didapat dari *HMP shunt*. Energi tersebut dibutuhkan oleh neutrofil untuk pergerakannya dan fagositosis. Penggunaan glukosa dan glikogen pada neutrofil dan monosit lebih tinggi bila dibandingkan dengan limfosit (Borregard dan Herlin, 1982 dalam Jain, 1986).

Basofil

Jumlah granulosit basofil dalam sirkulasi darah hanya sekitar 0,2% dari seluruh leukosit darah. Basofil ini nampak jelas karena adanya granula lembayung atau biru hitam besar yang strukturnya sangat kedap elektron dan homogen (Roitt *et al.*, 1996).

Basofil diperkirakan merupakan prekursor dari sel mast (Frandsen, 1986). Dalam kondisi normal, sel mast terdapat dalam jaringan. Sel mast dan basofil dapat mengeluarkan heparin ke dalam darah, yang dapat mencegah koagulasi darah. Selain heparin, keduanya juga melepaskan histamin, sedikit bradikinin, dan serotonin pada jaringan yang mengalami peradangan. Pelepasan histamin diaktivasi oleh faktor pelepas histamin yang disekresi oleh limfosit T (Ganong, 1999). Sel mast dan basofil

berperan penting dalam reaksi alergi, karena antibodi yang menyebabkan reaksi alergi yaitu IgE mempunyai kecenderungan untuk melekat pada sel mast dan basofil (Guyton dan Hall, 1996). Selain IgE, basofil dan sel mast juga mempunyai reseptor untuk IgG, beta adrenergik katekolamin, prostaglandin dan histamin (Let-Brown, 1981 dalam Jain, 1986).

Eosinofil

Jumlah eosinofil kira-kira 2-5 % dari jumlah total leukosit pada keadaan normal (Roitt *et al.*, 1996). Eosinofil diproduksi dalam jumlah besar oleh penderita infeksi parasit. Eosinofil akan melekat pada parasit dan akan melepaskan peroksidase yang dapat membunuh parasit tersebut (Dale dan Foreman, 1989). Sedangkan Tizard (1995) mengemukakan bahwa eosinofil melawan parasit dengan mengeluarkan suatu protein yang dinamakan *major basic protein (MBP)*. Eosinofil juga dapat mendetoksifikasi toksin yang dilepas oleh basofil dan sel mast (Guyton dan Hall, 1996). Eosinofil bergerak ke arah sel sasaran karena rangsangan mediator yang diproduksi oleh sel T, basofil dan sel mast, yang disebut *eosinophyl chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A)* (Kresno, 1996).

2.2.1 Monosit

Jumlah monosit kira-kira 5% dari leukosit total. Monosit berasal dari *pluripoten stem cell* mieloid yang bentuknya imatur dan mempunyai masa hidup yang singkat di dalam darah. Sel darah ini bila dalam keadaan matur akan membengkak, dikenal sebagai makrofag, dan letaknya tidak di dalam darah lagi, tetapi sudah bermigrasi ke jaringan (Dale dan Foreman, 1989). Makrofag jaringan jumlahnya

lebih banyak daripada monosit, pada manusia mempunyai ratio 50:1, dan mempunyai masa hidup beberapa minggu sampai tahunan (Lee *et al.*, 1993). Monosit dalam sirkulasi darah sebagai sel fagosit mononuklear, akan berubah bentuk dalam jaringan sistem retikuloendotelial (RES), misalnya ; sel Kuffer (hati), alveolar makrofag (paru-paru), osteoklast (tulang), sel mikroglial (otak) , intraglomerular mesangium (ginjal) , serosal makrofag (peritonium) dan sinusoid makrofag (limpa) (Kubby, 1992). Selain itu monosit juga bertindak sebagai *antigen presenting cell (APC)*. Sel ini memakan dan mendegradasi bahan-bahan asing dan memfagosit permukaan membran bahan-bahan asing tersebut sehingga mereka dapat dikenali oleh limfosit, kemudian limfosit akan menetralisasi atau menghancurkan agen tersebut (Sigal dan Ron, 1994). Makrofag maupun monosit juga memproduksi interleukin-1 (IL-1) yang diperlukan untuk mengatur ekspresi molekul adhesi pada endotel, sehingga memungkinkan peningkatan migrasi limfosit dan neutrofil ke area inflamasi. Selain itu IL-1 juga diperlukan untuk memacu proliferasi limfosit T dan limfosit B (Abbas *et al.*, 1994; Kresno, 1996).

2.2.2 Limfosit dan sistem limfoid

Sistem limfoid terdiri dari jaringan limfoid primer dan sekunder. Jaringan limfoid primer atau jaringan limfoid senter bertanggung jawab untuk produksi sel dan maturisasi sel (limfopoiesis). Pada mamalia jaringan limfoid primer terletak di sumsum tulang dan thymus. Limfosit diproduksi di organ limfoid primer, kira-kira 10^9 per hari (Roitt *et al.*, 1996). Beberapa dari sel tersebut migrasi melalui sirkulasi

darah masuk ke jaringan limfoid sekunder. Jaringan limfoid sekunder atau jaringan limfoid perifer terdiri dari limpa, kelenjar getah bening, sumsum tulang, kelenjar limfoid-mukosa (MALT), tonsil dan *Payer's patch* pada mukosa usus (Male, 1991; Roitt *et al.*, 1996). Jaringan limfoid sekunder berisi makrofag, sel APC, limfosit T dan limfosit B yang sudah matur (Norin, 1989).

Jumlah sel limfosit kira-kira 20% dari total sel darah putih yang ada dalam sirkulasi. Manusia dewasa mempunyai kurang lebih 10^{12} sel limfosit, sedangkan jaringan limfoid sekitar 2% dari total berat badan (Norin, 1989). Sel limfosit yang sudah matur mempunyai masa hidup yang panjang, dan mungkin bertahan sebagai sel memori selama beberapa tahun, atau malah sepanjang hidup dari individu tersebut (Roitt *et al.*, 1996). Ada dua macam limfosit yang mempunyai fungsi berbeda, yaitu limfosit T dan limfosit B. Keduanya mempunyai reseptor pada permukaan membran untuk antigen. Limfosit T berkembang dari prekursornya yang ada di dalam thymus, sedangkan limfosit B pada manusia dan mamalia berdiferensiasi di dalam hati pada waktu foetus dan di sumsum tulang pada waktu dewasa. Pada burung, limfosit B berdiferensiasi dari suatu organ unik, yaitu bursa Fabricius (Turgeon, 1993 ; Guyton dan Hall, 1996).

Limfosit T bertanggung jawab terhadap kekebalan yang diperantarai sel. Spesifitasnya dikontrol oleh reseptor antigen yang terdapat dipermukaannya (*T-cell receptors=TcR*). Limfosit T memproduksi bermacam-macam tipe molekul yang dikenal sebagai limfokin. Limfokin yang mempunyai fungsi memacu atau memperbesar respons dari limfosit lain melalui interaksi dengan reseptor spesifik yang lain dinamakan sel *T-helper*. Sedangkan sel *T-cytotoxic* atau sel *T-killer*,

mempunyai kemampuan untuk melisis target sel yang spesifik seperti sel yang terinfeksi virus, sel tumor atau sel asing yang ditransplantasikan ke dalam tubuh. Tipe limfosit yang lain, yaitu sel *T-suppressor* berperan sebagai imunoregulator dalam sistem imun (Sigal dan Ron, 1994).

Limfosit B bertanggung jawab terhadap kekebalan humoral. Bila sel ini bertemu dengan imunogen yang spesifik, sel ini akan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang dapat mensekresi imunoglobulin atau antibodi dan menjadi sel limfosit B *memory* bila dalam keadaan in aktif (Kresno, 1996; Roitt *et al.*, 1996).

Ternyata dalam jalur limfoid masih terdapat suatu sel yang merupakan populasi ketiga yang tidak menunjukkan karakteristik dari limfosit T maupun limfosit B, yang kemudian digolongkan dalam sel NK (*natural killer*). Sel NK ini berjumlah 0,6-2,4% dari total limfosit dalam darah (Kubby, 1992). Sel NK ini disebut juga sel null (Kresno, 1996) tidak mempunyai reseptor untuk antigen pada permukaan membrannya (Roitt *et al.*, 1996), tetapi melalui Fc reseptor yang dimilikinya dapat kontak dan membunuh sel tumor. Sesuai dengan namanya sel NK selain dapat membunuh tumor, juga dapat membunuh virus dan parasit (Stites *et al.*, 1997). Aktivitas dari sel NK akan meningkat dengan adanya faktor pertumbuhan interleukin-2 (IL-2) (Barbuto, 1998)

2.3 Mobilisasi Sel Imunokompeten

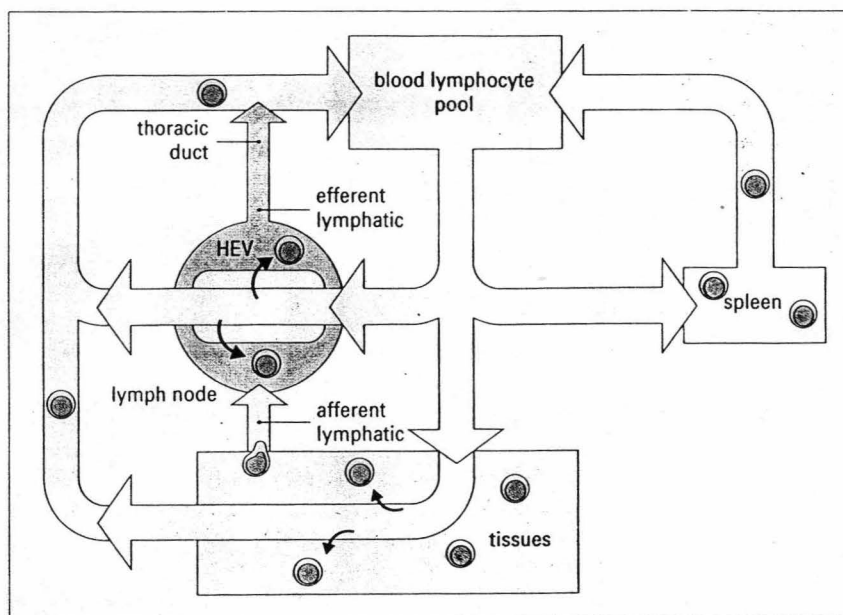
Sel imunokompeten merupakan unit yang aktif/mobil dari sistem pertahanan tubuh. Setelah mengalami pendewasaan di sumsum tulang (PMN) dan jaringan limfe (limfosit), sel-sel tersebut akan diangkut di dalam darah menuju ke berbagai bagian



tubuh lain. Distribusi dan redistribusi sel imunokompeten dari atau ke jaringan limfoid sekunder ternyata 90% melalui peredaran darah. Selain sel imunokompeten, imunoglobulin dan sitokin juga di distribusikan melalui peredaran darah (Chapel dan Haeney, 1993). Sel-sel granulosit dan monosit yang mempunyai kemampuan untuk mencari dan merusak setiap benda asing yang masuk akan diangkut secara khusus menuju ke tempat-tempat yang mengalami peradangan hebat (Guyton dan Hall, 1996). Untuk lebih menjelaskan mengenai mobilisasi sel imunokompeten maka akan dibahas mengenai resirkulasi sel imunokompeten dan migrasi sel imunokompeten.

2.3.1 Resirkulasi sel imunokompeten

Pada kondisi normal, limfosit yang matur akan mengalami resirkulasi terus menerus melalui sistem pembuluh darah menuju ke jaringan perifer dan sistem limfoid. Resirkulasi limfosit tersebut merupakan langkah *surveillance* imunologik pada limfosit (Dhabbar *et al.*, 1995). Kemampuan limfosit untuk berpindah dari dalam darah, limfe, jaringan limfoid dan jaringan non limfoid sangat penting dalam memungkinkan sistem imun untuk bereaksi dengan antigen dimanapun di dalam tubuh (Abbas *et al.*, 1994). Gambar 2.1 menjelaskan mengenai resirkulasi limfosit. Limfosit beredar melalui aliran darah dan aliran getah bening menuju dan kembali ke jaringan limfoid sekunder (Male, 1991). Limfosit keluar dari jaringan melalui pembuluh darah aferen limfatik dan masuk ke dalam kelenjar limfe. Kemudian pembuluh darah eferen limfatik akan melewatkan limfosit dari kelenjar limfe ke sirkulasi vena melalui duktus toraksikus, yang menyebabkan kembalinya limfosit ke dalam jaringan sekunder (Norin, 1989; Stites *et al.*, 1997).



Gambar 2.1. Resirkulasi limfosit (Roitt *et al.*, 1996)

Limfosit yang beredar dalam sirkulasi darah kira-kira berjumlah 20% dari jumlah seluruh limfosit dalam darah orang dewasa (Male, 1991; Roitt *et al.*, 1996). Limfosit T mengalami resirkulasi lebih cepat dibandingkan dengan limfosit B (Lee *et al.*, 1993).

2.3.2 Migrasi sel imunokompeten

Seperti yang telah diketahui bahwa limfosit dan fagositik mononuklear dapat bersirkulasi antara jaringan limfoid dan jaringan non-limfoid, sebaliknya neutrofil membuat perjalanan satu arah dari sumsum tulang ke jaringan dimana mereka membawa keluar fungsi efekturnya dan setelah itu sel tersebut akan mati (Abbas *et al.*, 1994).

Studi mengenai granulokinetik pada neutrofil menunjukkan bahwa terjadinya perubahan jumlah neutrofil dalam darah mungkin diperantarai oleh satu atau lebih dari mekanisme-mekanisme dasar di bawah ini : (1) granulopoiesis, (2) kecepatan pemasukan granulosit dari sumsum tulang, (3) perpindahan sel-sel antara kelompok sirkulasi dan marginasi, (4) masa hidup dari sel-sel pada fase intravaskular, dan (5) kecepatan pengeluaran granulosit dari dalam darah (Jain, 1986).

Pada umumnya, migrasi leukosit melewati endotel tergantung pada permukaan endotel tempat berinteraksinya endotel dengan leukosit, *haemodynamic shear* pada pembuluh dan ekspresi dari molekul adhesi pada leukosit maupun endotel. Berdasarkan ketiga faktor tersebut, maka migrasi dari leukosit biasanya terjadi di venul (Roitt *et al.*, 1996). Marginasi leukosit diikuti dengan rolling, adhesi yang kuat, emigrasi dan migrasi ke ruang interstitial (Ley, 1992). Stites *et al.*, (1997) membagi marginasi menjadi tiga fase dimana masing-masing fase diperantai oleh molekul adhesi yang berlainan; fase pertama adalah *rolling* diperantai oleh selektin, fase kedua adalah aktivasi diperantai oleh *chemoattractant*, sedangkan fase ketiga adalah pengikatan yang kuat diperantarai oleh integrin. Perpindahan leukosit dari marginasi ke sirkulasi melibatkan perubahan permukaannya terhadap perlekatannya dengan endotel pembuluh darah. Perlekatan itu menurun mungkin berhubungan dengan ditingkatkannya mobilisasi pada leukosit yang bersirkulasi (Jain, 1986).

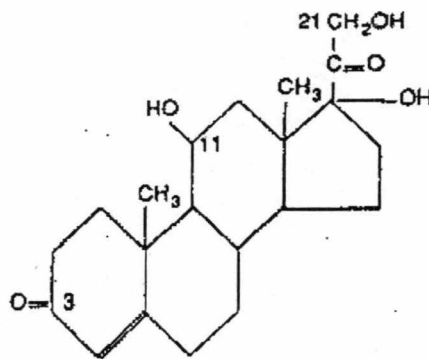
Homing atau *ecotaxis* adalah suatu istilah yang menjelaskan kecenderungan limfosit untuk bermigrasi ke area yang spesifik di dalam jaringan limfoid dan

menghabiskan lebih banyak waktunya di jaringan limfoid daripada di dalam darah tepi (Jain, 1986; Lee *et al.*, 1993). Migrasi tersebut dikendalikan oleh reseptor yang terdapat pada endotel vaskular yang berinteraksi dengan reseptor spesifik (*specific homing receptor*) yang terdapat dalam limfosit (Kresno, 1996). *Homing receptor* tersebut berinteraksi dengan molekul adhesi, yang dinamakan addressin, yang terdapat pada *High Endothelial Venules (HEVs)* yang terdapat di berbagai jaringan limfoid (Abbas *et al.*, 1994).

Jalannya migrasi limfosit antara organ limfoid dan jaringan tepi digambarkan dengan baik oleh sel T. Jika sel T yang sudah masak pertama kali meninggalkan thymus, masuk ke aliran darah, saat tersebut sel T dinamakan sel T muda atau *virgin* karena belum bertemu dengan antigen spesifiknya (Picker *et al.*, 1993). Molekul yang terdapat pada permukaan sel T muda yaitu L-selektin. L-selektin mempunyai kadar yang tinggi pada sel T muda, berikatan dengan endothelium pada kelenjar getah bening, dan memerantarai *homing* pada sel T muda di kelenjar getah bening. Fisiologi penting dari perbedaan jalur *homing* antara sel T muda dan sel T memori adalah bahwa pada sel T muda lebih menyukai *home* organ limfoid, dimana mereka mengenal dan merespon antigen asing (fase kognitif dan fase aktivasi), sedangkan sel T memori lebih menyukai *home* pada jaringan tepi yang terinfeksi dimana mereka dibutuhkan untuk mengeliminasi antigen (fase efektor) (Abbas *et al.*, 1994).

2.4 Hidrokortison

Hormon glukokortikoid yang berasal dari korteks adrenal merupakan senyawa steroid, yang dibentuk dari kolesterol yang kemudian akan diabsorpsi secara langsung dari sirkulasi darah melalui proses endositosis. Glukokortikoid yang utama pada manusia adalah kortisol, yang dikenal juga sebagai hidrokortison, sedangkan pada beberapa species hewan lainnya, misalnya tikus, glukokortikoid yang utama adalah kortikosteron (Goldfien, 1998).



Gambar 2.2 Struktur kimia kortisol (Guyton dan Hall, 1996)

Kortisol akan diabsorpsi dengan baik bila diberikan secara oral. Kadar tertinggi akan cepat tercapai di dalam cairan tubuh bila diberikan secara intravena, sedangkan untuk mendapatkan efek yang lama sebaiknya diberikan secara intramuskuler (Suherman, 1995). Farmakokinetik dari obat ini adalah bahwa di dalam plasma, 75% akan berikatan dengan globulin pengikat kortikosteroid (CBG = transkortin) yang disintesis di hati, sedangkan 20% terdapat bebas dan 5% terikat longgar pada albumin (Miller dan Tyrell, 1995). Normal waktu paruhnya di dalam

sirkulasi 60-90 menit, dan dapat meningkat bila terdapat dalam jumlah besar, dalam keadaan stres dan hipotiroidisme. Obat ini dikeluarkan dari sirkulasi ke dalam hati, yang kemudian akan direduksi dan dikonjugasi untuk membentuk senyawa yang larut air dan diekskresi dalam urine (Goldfien, 1998).

Konsentrasi kortisol dalam plasma cenderung tinggi pada pagi hari dan rendah pada malam hari. Hal ini tergantung juga dari kebiasaan tidur, bila kebiasaan tidur berubah maka akan timbul perubahan siklus. Siklus ini sangat penting untuk diketahui berhubungan dengan waktu pengambilan kadar kortisol dalam darah (Miller dan Tyrell, 1995; Guyton dan Hall, 1996).

Kortisol mempunyai kapasitas menurunkan secara dramatis manifestasi peradangan. Hal ini terutama karena efeknya sangat hebat terhadap konsentrasi, distribusi dan fungsi leukosit perifer, yaitu dapat menghambat migrasi leukosit ke daerah inflamasi. Selain itu kortisol juga dapat menyebabkan vasokonstriksi bila dioles langsung pada pembuluh darah dan menurunkan permeabilitas kapiler dengan menghambat aktivitas kinin dan endotoksin bakteri serta menurunkan histamin yang dilepas oleh basofil (Ganong, 1999; Goldfien, 1998).

Glukokortikoid dan ACTH dapat mengatasi gejala klinik reaksi hipersensitivitas. Pada reaksi hipersensitivitas tipe lambat (*cell-mediated*), misalnya penolakan jaringan, glukokortikoid tidak menghambat migrasi limfosit yang berperan dalam sistem imun yang dapat menimbulkan respons inflamasi bila bersentuhan dengan antigen (Suherman, 1995). Pengaruh utama hormon kortisol dalam stres adalah terhadap metabolisme organik. Peningkatan hormon kortisol dapat menyebabkan meningkatnya katabolisme protein, meningkatnya lipolisis dan

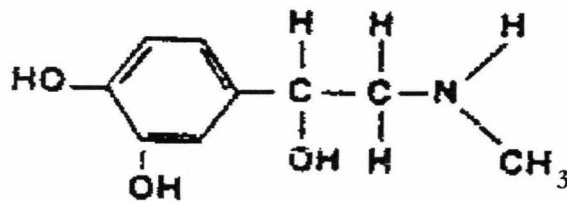
glukoneogenesis, menurunnya glukosa *uptake* oleh sel, serta meningkatnya katabolisme triasilgliserol di jaringan lemak, dengan pelepasan gliserol dan asam lemak ke dalam darah. Secara keseluruhan keadaan tersebut mengakibatkan meningkatnya konsentrasi asam amino, glukosa, gliserol dan asam lemak bebas dalam plasma. Keadaan demikian itu merupakan rangkaian efek metabolisme yang dapat mengurangi sifat pengrusakan akibat stres (Vander *et al.*, 1994).

Norin (1989) menyatakan bahwa mekanisme pertahanan, seperti pelepasan adrenalin, prostaglandin, limfokin, dapat merusak organisme jika tidak dikontrol oleh glukokortikoid. Jika dalam mengatasi stres mengalami kegagalan, kadar glukokortikoid dalam sirkulasi darah akan diusahakan untuk ditingkatkan (Miller dan Tyrell, 1995).

Golongan glukokortikoid sebagai immunosupresi mempunyai mekanisme menghambat aktivitas makrofag untuk mensekresi IL-1 juga menghambat aktivitas limfosit T (Th) untuk mensekresi IL-2 dan TNF (Miller, 1989). Glukokortikoid dapat bekerja menekan IL-1 pada tingkat mRNA (Orth dan Kovacs, 1998), mengekspresikan gen untuk reseptor IL-2 dan sekresi IL-2 (Glaser, 1990). Glukokortikoid (eksogen) juga dapat menekan sekresi ACTH dalam pengendalian antar neurohormon dan dapat langsung menekan fungsi limfosit T dan limfosit B (Orth dan Kovacs, 1998). Dengan demikian glukokortikoid dapat mempengaruhi secara tidak langsung pada sel ketahanan tubuh.

2.5 Adrenalin

Medula adrenalis merupakan bagian dari ganglion simpatetik yang mengalami modifikasi. Sel sekretoris dari medula adrenalis dinamakan sel kromafin yang ekuivalen dengan postganglion neuron simpatetik tanpa akson. Sel kromafin tersebut terdiri dari vesikel-vesikel yang berisi adrenalin dan noradrenalin. Kedua hormon tersebut dinamakan katekolamin karena menurut struktur kimianya merupakan golongan *amines*, yang diproduksi dari asam amino fenil alanin melalui beberapa reaksi kimia yang terjadi pada sel kromafinnya. Hidroksilasi dari p-tirosin yang berasal dari fenilalanin akan menghasilkan Dopa. Dopa mengalami dekarboksilasi menjadi Dopamin. Hidroksilasi dari Dopamin akan menghasilkan noradrenalin. Di dalam medula adrenal noradrenalin akan mengalami metilasi untuk menghasilkan adrenalin (Kapit *et al.*, 1987; Guyton dan Hall, 1996). Struktur kimia dari adrenalin dapat dilihat pada gambar 2.3 di bawah ini.



Gambar 2.3. Struktur kimia adrenalin (Cryer, 1995)

Pada manusia, sekresi dari katekolamin yang paling banyak adalah adrenalin yaitu sebanyak 80% dari total katekolamin yang dikeluarkan, sedangkan noradrenalin hanya 20% (Kapit *et al.*, 1987). Pada hewan-hewan agresif, seperti famili kucing, sekresi noradrenalin lebih banyak daripada adrenalin (Frandsen, 1986).

Noradrenalin dan adrenalin yang disekresikan ke dalam darah oleh medula adrenal akan tetap aktif selama 10 sampai 30 detik, dan selanjutnya diikuti dengan penurunan aktivitas satu hingga beberapa menit kemudian oleh karena didifusikan ke dalam jaringan tempat keduanya dihancurkan oleh *katekol-O-metil transferase (COMT)*, peristiwa ini terutama terjadi di dalam hati (Guyton dan Hall, 1996).

Pada umumnya, pemberian adrenalin secara oral tidak akan dapat mencapai dosis terapi, karena sebagian besar akan dirusak oleh enzim *katekol-O-metil transferase (COMT)* dan *monoamin oksidase (MAO)* yang banyak terdapat pada dinding usus dan hati. Pada penyuntikan subkutan, absorpsi menjadi lambat karena vasokonstriksi, hal tersebut dapat dipercepat dengan memijat tempat suntikan. Penyuntikan secara intramuskular akan menghasilkan absorpsi yang lebih cepat (Setiawati, 1995).

Hormon katekolamin akan mencapai target organnya dan berikatan dengan reseptor adrenergik yang terdapat pada membran sel dari target organ. Reseptor adrenergik dibagi menjadi dua tipe, yaitu: reseptor alfa dan reseptor beta. Noradrenalin lebih peka terhadap reseptor alfa, sedangkan adrenalin dapat berikatan dengan reseptor alfa maupun reseptor beta (Kapit *et al.*, 1987). Adrenalin dosis rendah akan menyebabkan dilatasi pada otot skelet. Hal ini disebabkan aktivasi reseptor β_2 pada adrenalin afinitasnya lebih besar daripada reseptor α . Sebaliknya pada adrenalin dosis tinggi, dominasi reseptor α akan menyebabkan peningkatan tekanan darah. Pada waktu kadar adrenalin menurun, efek reseptor α yang kurang

sensitif akan lebih dulu menghilang, sedangkan efek reseptor β_2 masih ada dan menyebabkan hipotensi sekunder (Hoffman dan Lefkowitz, 1991; Setiawati, 1995).

Adrenalin mengimbangi kerja insulin yang menekan kadar gula darah dengan cara menginisiasi pemecahan glikogen, baik dari hati maupun dari otot. Hormon ini juga menyebabkan hormon pituitari anterior mensekresi ACTH, yang kemudian merangsang hormon-hormon korteks adrenal untuk mensintesis karbohidrat dari protein (glukoneogenesis) (Frandsen, 1986).

2.6 Efek Hidrokortison terhadap Mobilisasi Sel Imunokompeten dalam Darah

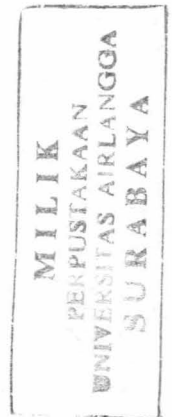
Kortikosteroid merupakan kelas obat hormon pertama yang dikenal mempunyai efek limfolitik. Pemberian glukokortikoid dapat menurunkan ukuran dan kandungan limfoid nodus limfatikus dan limpa, walaupun ia tidak mempunyai efek toksik terhadap induk eritroid atau mieloid yang berproliferasi di sumsum tulang. (Goldfien, 1998).

Pemberian dosis tunggal glukokortikoid akan menimbulkan peningkatan neutrofil, dan penurunan limfosit, eosinofil dan basofil. Perubahan-perubahan tersebut diatas dapat terjadi secara maksimum empat sampai enam jam pasca pemberian dan kembali normal dalam 24 jam (Bellanti, 1985; Goldfien, 1998). Peningkatan neutrofil terjadi karena pelepasan cadangan neutrofil dari sumsum tulang dan penurunan migrasi dari pembuluh darah ke jaringan tubuh. Penurunan jumlah limfosit, monosit dan eosinofil disebabkan kemungkinan karena sel-sel tersebut mengalami redistribusi keluar dari sirkulasi masuk ke dalam jaringan tubuh lain,

seperti sumsum tulang, limpa, kelenjar getah bening dan duktus thoraksikus (Miller dan Tyrell, 1995). Redistribusi sel imun dari darah ke jaringan tubuh lain tersebut berfungsi untuk membantu meningkatkan *surveillance imunologik* dengan tujuan akhir untuk meningkatkan fungsi imun terhadap imunogen (Dhabbar dan Mc Ewen, 1996).

Glukokortikoid juga menghambat fungsi leukosit dan makrofag jaringan, sehingga kemampuan sel-sel ini untuk merespon antigen dan mitogen menjadi berkurang. Efek terhadap makrofag sangat jelas dalam membatasi kemampuannya memfagositosis dan membunuh mikroorganisme serta menghasilkan pirogen, kolagenase, elastase, dan juga menghambat aktivitas plasminogen. Respon monosit terhadap glukokortikoid tergantung pada spesiesnya. Pada manusia, tikus dan mencit pemberian dosis tunggal glukokortikoid akan menyebabkan monositopenia. Pada anjing dapat mengakibatkan monositosis, sedangkan pada babi tidak mengakibatkan perubahan jumlah monosit dalam darah (Wintrobe, 1981 dalam Jain, 1986).

Mekanisme eosinopenia yang terinduksi oleh kortikosteroid masih belum diketahui secara pasti. Karena kortikosteroid mempunyai efek menetralkan histamin dan histamin adalah kemotaktik bagi eosinofil, penurunan pelepasan eosinofil dari sumsum tulang akan diikuti dengan menurunnya kadar histamin di bawah normal dalam darah setelah pemberian maupun setelah tersekresinya hormon kortikosteroid. Lepasnya eosinofil ke sirkulasi berkurang juga diakibatkan karena perlekatan dan terhambatnya kemotaksis eosinofil yang sudah diteliti baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro* (Altman *et al.*, 1981). Kortikosteroid selain menetralkan histamin juga menstabilkan membran lisosomal (De Chatelet, 1977). Injeksi glukokortikoid



menyebabkan penurunan jumlah basofil secara cepat dan lama, sehingga kadar histamin dalam darah ikut menurun (Schleimer, 1981).

Dhabbar *et al.*, (1995) melaporkan bahwa glukokortikoid (dosis fisiologis) mungkin secara tidak langsung dapat mempengaruhi interaksi adhesi leukosit dan sel endotel dengan cara mempengaruhi produksi sitokin dan lipokortin yang biasanya mempengaruhi kemampuan adhesi permukaan leukosit dengan sel endotel.

Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Setyawan dkk (1994) dapat disimpulkan bahwa pemberian deksametason, yang merupakan glukokortikoid sintetik, selama tujuh hari berturut-turut dengan dosis 0,003 mg/kg bb/hari pada tikus putih memberikan pola penekanan limfosit total di darah perifer, tetapi pola penekanan terlebih dahulu terkompensasi dengan pola peningkatan neutrofil (PMN), walaupun dalam proses selanjutnya neutrofil akan mengalami penekanan. Sedangkan pemulihan belum terjadi sampai minggu ke enam.

Roess (1983) menyatakan bahwa pemberian glukokortikoid (*in vivo*) dosis tinggi dapat menurunkan produksi IgG, sedangkan pengaruhnya terhadap limfosit B tergantung pada maturitas sel. Sebaliknya dampak glukokortikoid terhadap PMN maupun limfosit melalui penekanan sekresi interleukin-1 (IL-1). Hidrokortison dapat menekan produksi IL-1, sehingga IL-1 tidak dapat membantu limfosit T-helper untuk memproduksi IL-2. Limfosit B tanpa adanya IL-2 akan terhambat fungsinya untuk membentuk antibodi. Selain hal tersebut diatas, tertekannya IL-1 juga dapat menekan haemotoposis di sumsum tulang dan menghambat produksi dan aktivitas neutrofil (Pimentel, 1994; Stites *et al.*, 1997).

2.7 Efek Adrenalin terhadap Mobilisasi Sel Imunokompeten dalam Darah

Pemberian adrenalin secara injeksi akan mengakibatkan perubahan sel imunokompeten yang berbeda-beda tergantung pada cara penyuntikan maupun waktu pengamatannya. Bila adrenalin diberikan secara intravena, neutrofilia sudah terjadi dan mencapai puncaknya dalam waktu lima sampai sepuluh menit pasca pemberian. Jika adrenalin diberikan secara intramuskular akan mengakibatkan leukositosis dalam dua fase. Fase pertama akan meningkatkan jumlah neutrofil, limfosit dan eosinofil dan mencapai puncaknya dalam waktu 17 menit pasca pemberian dan kemudian akan berangsur-angsur kembali ke kadar normal. Fase kedua, neutrofil akan meningkat kembali empat jam setelah pemberian (Lee *et al.*, 1993). Penelitian yang dilakukan Crary *et al.*, (1983a&b) melaporkan bahwa injeksi subkutan 0,2 mg adrenalin pada orang yang sehat menyebabkan limfositosis dan leukositosis yang sudah dapat diamati 15 menit setelah pemberian dan mencapai puncaknya 30 menit pasca pemberian. Semuanya akan kembali normal kira-kira dalam dua jam pasca pemberian. Limfositosis yang terjadi tidak menambah presentase dari limfosit B, yang terlihat jelas adalah meningkatnya jumlah dan fungsi dari sel NK dan sebaliknya menekan aktivitas dan fungsi limfosit *T-helper* (Crary *et al.*, 1983b; Schedlowski *et al.*, 1996). Efek adrenalin terhadap neutrofil ternyata dapat meningkatkan kadarnya dalam darah sebanyak 80% dan menurunkan perlekatannya kurang dari 50% dalam waktu lima menit setelah pemberian. Kemampuan perlekatan tersebut menurun karena aktivasi dari beta reseptor. Efek tersebut dapat diiadakan oleh *beta antagonis propanolol hydrochloride* jika diberikan sebelum injeksi adrenalin (Boxer *et al.*, 1980 dalam Jain, 1986). Menurut Athens *et al.*, (1961), yang

kemudian dikuatkan juga oleh Davis *et al.*, (1991) bahwa meskipun kadar neutrofil dalam darah meningkat akibat pemberian adrenalin, hal tersebut tidak merubah jumlah total granulosit dalam darah, karena peningkatan tersebut hanya disebabkan oleh perpindahan neutrofil marginasi menjadi neutrofil yang bersirkulasi.

Respon awal dari injeksi adrenalin terhadap eosinofil dilaporkan dapat mengakibatkan eosinofilia ringan yang akan mencapai puncaknya satu jam pasca pemberian, diikuti dengan eosinopenia selama empat jam. Efek eosinofilia kemungkinan disebabkan oleh mobilisasi eosinofil dari limfa, sebab hal ini tidak terlihat pada tikus yang mengalami splenektomi. Efek eosinopenia pada katekolamin adalah karena efek dari beta-adrenergik, sebab eosinopenia hanya terjadi pada obat-obatan yang golongan beta-adrenergik murni. Pemberian adrenalin pada domba akan mengakibatkan eosinopenia 70% di dalam darah dan 50% di limpa tiga jam setelah pemberian (Jain, 1986).

2.8 Efek Kombinasi Hidrokortison dan Adrenalin terhadap Mobilisasi Sel Imunokompeten dalam Darah

Brohee *et al.*, (1990) telah mengamati adanya perubahan proporsi leukosit dan limfosit pada manusia yang sehat setelah pemberian hidrokortison dan adrenalin intravena yang diberikan secara bersamaan. Hasil yang didapat berlainan tergantung pada waktu pengamatannya. Pada pengamatan sepuluh menit pasca pemberian terlihat leukositosis, tetapi setelah satu jam pasca pemberian terjadi limfopenia dan monositopenia. Pada pengamatan enam jam pasca pemberian terjadi eosinofilia dan neutrofilia.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

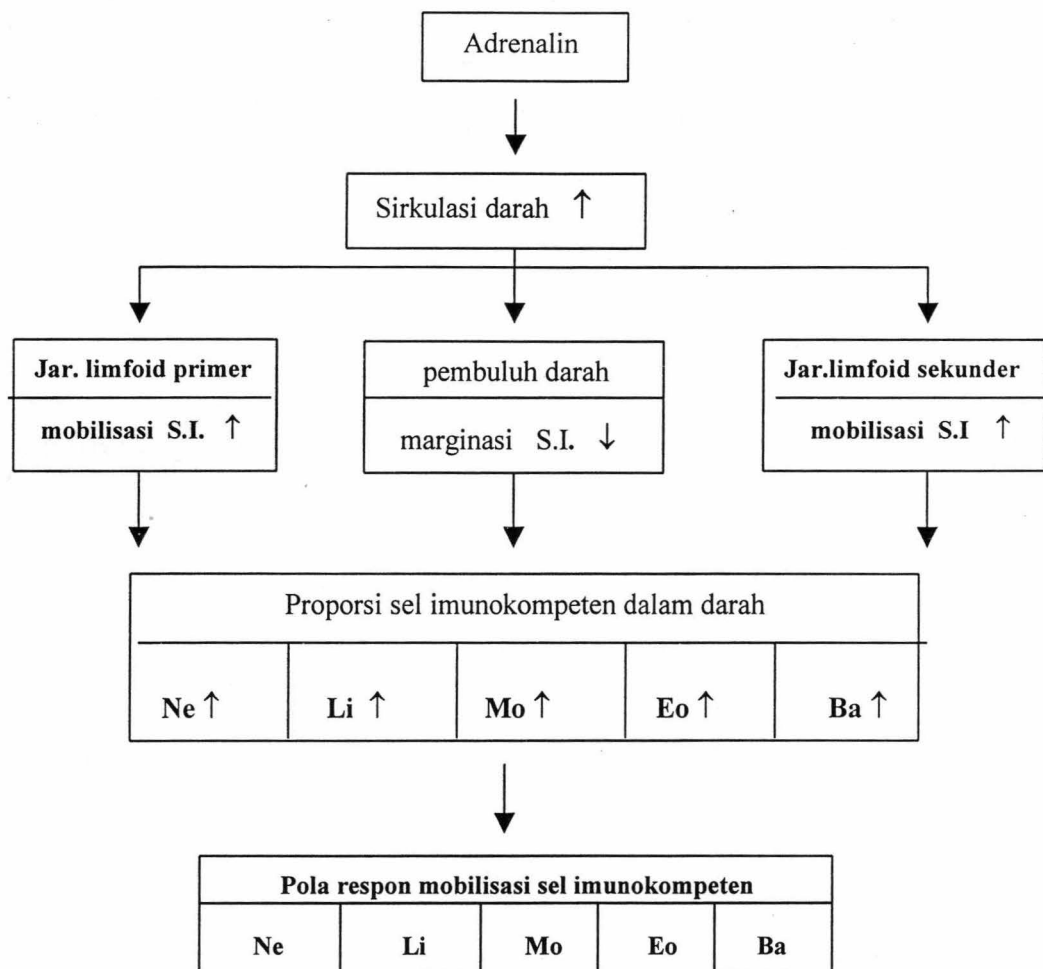
Pemberian adrenalin mengakibatkan sirkulasi darah meningkat sehingga mobilisasi sel imunokompeten di dalam jaringan limfoid primer dan sekunder meningkat, sedangkan marginasinya pada pembuluh darah menurun. Penelitian yang dilakukan oleh Crary *et al.*, (1983a&b) memperlihatkan gambaran limfositosis dan leukositosis setelah pemberian 30 menit. Limfositosis yang terjadi terutama akibat dari peningkatan jumlah sel NK. Sedangkan neutrofilia yang terjadi disebabkan karena neutrofil yang berada di tepi (marginasi) masuk ke dalam sirkulasi (Athens *et al.*, 1961; Davis *et al.*, 1991).

Pemberian hidrokortison akan mengakibatkan terhambatnya sekresi IL-1 yang dihasilkan oleh sel imunokompeten (terutama monosit dan makrofag), sehingga akan menurunkan proliferasi dan mobilisasi sel imunokompeten di dalam jaringan limfoid primer dan sekunder (Pimentel, 1994; Stites *et al.*, 1997). Pada penelitian-penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian hidrokortison akan memperlihatkan gambaran limfositopenia, eosinopenia, basopenia dan monositopenia yang disebabkan oleh redistribusi sel-sel tersebut ke jaringan limfoid. Sedangkan pada neutrofil terlihat gambaran neutrofilia yang disebabkan karena meningkatnya kecepatan pelepasan neutrofil dari sumsum tulang dan bertambah panjangnya *half life* dari sel neutrofil (Davis *et al.*, 1991; Miller dan Tyrell, 1995).

Pengaruh pemberian kombinasi hidrokortison dan adrenalin memberikan gambaran yang berbeda-beda tergantung dari waktu pengamatan yang dilakukan (Brohee *et al.*, 1990).

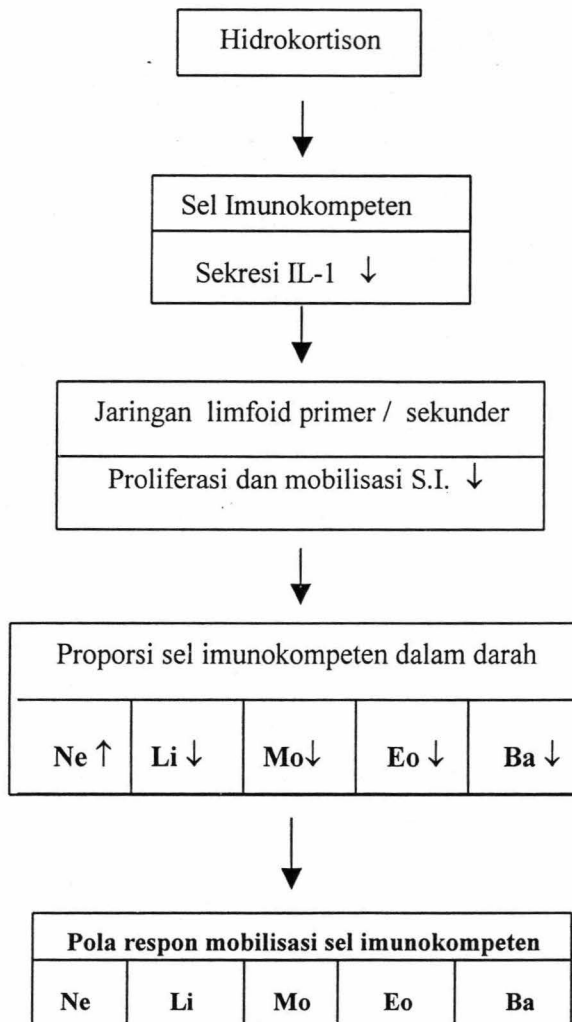
Adanya mobilisasi sel-sel imunokompeten akibat pengaruh hidrokortison, adrenalin serta kombinasi hidrokortison dan adrenalin tersebut akan mengakibatkan perubahan proporsi sel imunokompeten dalam darah. Untuk mengetahui sel imunokompeten dalam darah yang mempunyai kontribusi paling dominan terhadap respon mobilisasi akibat pengaruh obat-obatan tersebut, maka perlu ditetapkan pola respon mobilisasi sel imunokompeten dalam darah.

Kerangka konseptual diatas dapat di ikhtisarkan sebagai berikut :



Keterangan :

- S.I. : Sel Imunokompeten
- Ne : Neutrofil
- Li : Limfosit
- Mo : Monosit
- Eo : Eosinofil
- Ba : Basofil



3.2 Hipotesis

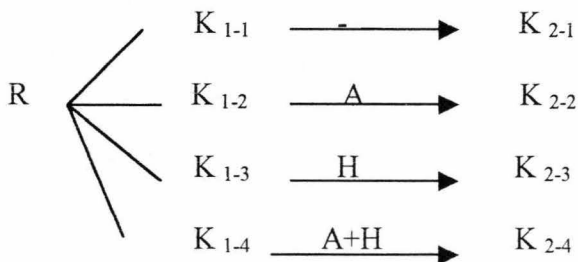
Terdapat perbedaan pola respon mobilisasi sel imunokompeten dalam darah antara pengaruh adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin dan hidrokortison.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *Randomized Posttest Only Control Group Design* (Zainuddin, 1993).



Keterangan :

R : randomisasi seluruh sampel

K₁₋₁ : kontrol

K₁₋₂ : kelompok perlakuan adrenalin

K₁₋₃ : kelompok perlakuan hidrokortison

K₁₋₄ : kelompok perlakuan hidrokortison dan adrenalin

K₂₋₁, K₂₋₂, K₂₋₃, K₂₋₄ : pengambilan data post

4.2 Populasi, Teknik Sampling dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus jantan sehat (*Rattus norvegicus*) jenis Sprague-Dawley yang berumur sama (tiga bulan) yang didapat dari Pusat Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

4.2.2 Teknik Sampling

Teknik sampling untuk pengelompokan adalah *simple random sampling*.

4.2.3 Sampel

Jumlah sampel dalam penelitian ini berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yang ditentukan berdasarkan rumus Higgins dan Kleinbaum (1985), sehingga didapat jumlah sampel 10 ekor tikus tiap kelompok (lampiran 1).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas (perlakuan)

Variabel perlakuan dalam penelitian adalah :

1. Pemberian adrenalin
2. Pemberian hidrokortison
3. Pemberian adrenalin dan hidrokortison

4.3.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung yang ditetapkan dalam penelitian ini adalah :

1. Neutrofil
2. Eosinofil
3. Basofil
4. Monosit
5. Total limfosit

4.3.3 Variabel kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah :

1. Jenis kelamin tikus
2. Umur tikus
3. Waktu pengambilan sampel.

4.3.4 Variabel moderator

Variabel moderator yang ditetapkan dalam penelitian ini adalah :

1. Berat badan
2. Total leukosit
3. Eritrosit
4. Hematokrit
5. Haemoglobin

4.3.5 Definisi Operasional

Variabel tergantung

Variabel tergantung yang diamati dalam penelitian ini adalah : neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan total limfosit yang merupakan komponen sel imunokompeten dalam darah.

Pola respon mobilisasi sel imunokompeten

Pola respon mobilisasi sel imunokompeten adalah suatu komposisi yang dibentuk oleh beberapa variabel tergantung yang menggambarkan besarnya kontribusi respon mobilisasi sel imunokompeten dalam darah akibat pengaruh adrenalin dan hidrokortison .

4.4 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah Solu - Cortef yang mengandung 100 mg/ 2ml hidrokortison (UpJohn), adrenalin 1mg/1 ml (Ethica) , aquabidest (PT. Otsuka Indonesia) , eter anasthesi (Kimia Farma) dan EDTA.

4.5 Instrumen Penelitian

Alat-alat penelitian yang digunakan adalah neraca elektrik (Torbal), spuit disposable dan tabung reaksi. Pengukuran sel imunokompeten dalam darah: basofil, eosinofil, neutrofil, monosit dan total limfosit menggunakan metode peroksidase dengan alat Technicon H-3 (TH-3) (lampiran 2) yang terdapat di Laboratorium Klinik Prodia Surabaya.

4.6 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dibagi menjadi empat tahapan, yaitu :

1. Persiapan.

Hewan coba yang digunakan sebanyak 40 ekor tikus jantan yang memenuhi kriteria umur yang sama (tiga bulan) dengan berat badan kurang lebih 200 gram. Hewan tersebut dipelihara untuk adaptasi selama 15 hari dengan diberi jenis pakan yang sama, yaitu ransum ayam 521 (PT. Charoen Phokphand).

2. Randomisasi kelompok.

Seluruh sampel secara *simple random sampling* dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing terdiri dari 10 ekor.

3. Pemberian perlakuan (lihat lampiran 5)

K1 : Kelompok kontrol, diberi aquabidest sebanyak 0,18 ml.

K2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian adrenalin 0,009 mg /0,18 ml aquabidest.

K3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian hidrokortison 1,8 mg /0,18 ml aquabidest.

K4 : Kelompok perlakuan dengan pemberian adrenalin 0,009 mg /0,09 ml aquabidest dan hidrokortison 1,8 mg / 0,09 ml aquabidest.

Pemberian perlakuan pada semua kelompok secara intramuskular, yaitu pada *musculus gluteus*.

4. Mengambil unit analisis

Hewan coba yang akan diambil darahnya harus lebih dahulu di anastesi menggunakan eter. Unit analisis yang digunakan adalah darah perifer yang diambil secara intrakardial sebanyak tiga ml ditampung dalam tabung reaksi yang di dalamnya sudah berisi EDTA. Pengambilan unit analisis tersebut dilakukan 30 menit setelah perlakuan (Crary *et al*, 1983; Schedlowski *et al.*, 1993). Sampling darah yang didapat dilakukan pengukuran sel imun (eosinofil, basofil, neutrofil, monosit dan total limfosit) menggunakan metode peroksidase dengan alat Tehnicon H-3.

4.7 Tahapan Analisis Data

Tahapan analisis data merupakan rangkaian langkah untuk menjawab permasalahan berdasar tujuan penelitian , yang meliputi (Adomian *et al.*, 1984; Sharma, 1996) :

1. Uji Homogenitas Sampel

Uji ini digunakan untuk mengetahui homogenitas sampel melalui variabel moderator dengan menggunakan analisis varians.

2. Analisis Multivariat (Manova)

Analisis Multivariat digunakan untuk mengetahui adanya beda respon mobilisasi limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil dalam darah pada kelompok yang diberikan adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin - hidrokortison.

3. Analisis Diskriminan

Jika terdapat beda respon antar kelompok perlakuan maka akan diteruskan dengan Analisis Diskriminan. Analisis ini digunakan untuk mendapatkan variabel yang membedakan respon mobilisasi neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit dalam darah akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison atas dasar konsep imunoneuroendokrinologi.

4. Pola respon mobilisasi sel imunokompeten

Mewujudkan pola respon mobilisasi sel imunokompeten dimana variabel pola berdasarkan hasil analisis diskriminan. Pola tersebut digunakan untuk menjelaskan dan menafsirkan beda respon mobilisasi sel imunokompeten terhadap pemberian adrenalin, hidrokortison, dan kombinasi hidrokortison dan adrenalin.



BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Uji Homogenitas

Untuk meyakinkan bahwa faktor-faktor yang dijadikan variabel moderator tidak akan mempengaruhi analisis hasil, maka secara statistik harus diuji melalui uji homogenitas dengan analisis varians. Variabel moderator yang diuji homogenitasnya meliputi berat badan, leukosit, eritrosit, hemoglobin dan haematokrit dari masing-masing sampel. Rerata dan simpangan baku variabel moderator pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 5.1 dibawah ini.

Tabel 5.1 Data rerata dan standar deviasi variabel moderator pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison, dan kombinasi adrenalin-hidrokortison

Variabel	Kontrol		Adrenalin		Hidrokortison		Adrenalin + Hidrokortison		p
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Leukosit	6,943	1,683	5,729	1,669	6,347	1,756	5,385	1,756	0,1248
Eritrosit	7,736	0,475	7,840	0,364	7,581	0,361	7,768	0,446	0,5725
Hemoglobin	13,85	0,985	13,89	0,89	13,89	0,748	13,72	0,856	0,9680
Hematokrit	39,82	2,021	40,36	2,258	39,70	2,370	39,95	1,941	0,9109
Berat badan	190,9	23,13	169,3	22,09	177,9	18,39	182,2	19,71	0,1559

Keterangan : satuan leukosit : 10^3 /mikroliter
eritrosit : 10^6 /mikroliter
haemoglobin : g/dL
hematokrit : %
berat badan : gram

Hasil analisis varians (lampiran 7) menunjukkan bahwa semua variabel moderator berbeda tidak nyata antar kelompok ($p > 0,05$).

5.2 Hasil Uji Multivariat

Variabel yang diuji adalah variabel tergantung yang terdiri dari : neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil dan basofil. Variabel tersebut diuji menggunakan uji statistik *multivariate of significance*. Rerata dan standar deviasi dari variabel tergantung dapat dilihat pada tabel 5.2 dibawah ini.

Tabel 5.2 Data rerata dan standar deviasi variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison, dan kombinasi adrenalin-hidrokortison

Variabel	Kontrol		Adrenalin		Hidrokortison		Adrenalin + Hidrokortison	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Neutrofil	2,606	1,040	1,945	1,199	2,625	1,091	1,440	0,669
Limfosit	3,299	1,008	2,689	1,662	2,758	0,860	2,639	1,361
Monosit	0,523	0,491	0,790	0,922	0,625	0,754	0,894	0,951
Eosinofil	0,298	0,146	0,123	0,067	0,205	0,144	0,205	0,109
Basofil	0,021	0,009	0,017	0,006	0,015	0,005	0,015	0,008

Keterangan : satuan : (10^3 / mikroliter)
Uji Manova (Wilks) $p > 0,05$

Hasil manova dengan koefisien Wilk's = 0,49547; $p = 0,062$ (lampiran 8) menunjukkan adanya perbedaan tidak nyata antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$), namun secara analisis univariat didapatkan perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan pada eosinofil ($p=0,025$) dan neutrofil ($p=0,037$) (tabel 5.3). Atas dasar perbedaan pada eosinofil dan neutrofil tersebut, maka analisis dapat dilanjutkan untuk mendapatkan variabel pembeda.

Tabel 5.3 Hasil analisis univariat variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison , dan kombinasi adrenalin-hidrokortison

Variabel	p
Neutrofil	0,037*
Limfosit	0,627
Monosit	0,734
Eosinofil	0,025*
Basofil	0,324

Keterangan : tanda (*) menyatakan berbeda nyata ($p < 0,05$)

5.3 Hasil Uji Diskriminan

Kegunaan uji diskriminan adalah untuk mengetahui variabel tergantung yang berfungsi sebagai variabel pembeda terkuat. Pengujian dilakukan pada setiap variabel tergantung pada masing-masing kelompok. Uji diskriminan (lampiran 9) pada penelitian ini menampilkan tiga variabel pembeda yaitu : neutrofil, limfosit dan eosinofil (tabel 5.4). Bila ketiga variabel pembeda tersebut dipakai bersama memberi ketepatan pembeda sebesar 55 % (lampiran 9). Selain itu uji diskriminan juga menghasilkan koefisien diskriminan seperti yang terdapat pada tabel 5.5.

Tabel 5.4 Hasil uji diskriminan variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison, dan kombinasi adrenalin-hidrokortison

Variabel	p
Neutrofil	0,0094
Limfosit	0,0201
Eosinofil	0,0248

Tabel 5.5 Koefisien diskriminan (Fischer) variabel tergantung pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison

Variabel	Kontrol	Adrenalin	Hidrokortison	Adre. + Hidro.
Neutrofil	2,639739	2,006884	2,649786	1,495226
Limfosit	2,678763	2,022971	2,209447	2,064454
Eosinofil	24,72756	11,66193	17,42344	17,55851

5.4 Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok Perlakuan

Kegunaan uji perbedaan antar kelompok perlakuan (lampiran 9) adalah untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok kontrol, kelompok adrenalin, kelompok hidrokortison dan kelompok adrenalin-hidrokortison yang terdapat pada variabel pembeda. Pada tabel 5.6, 5.7 dan 5.8 ditunjukkan signifikansi masing-masing variabel tergantung setelah melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan.

Tabel 5.6 Signifikansi neutrofil melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan

Variabel tergantung	Kelompok	Kontrol	Adrenalin	Hidrokortison
Neutrofil	Adrenalin	0,0060 *		
	Hidrokortison	0,2483	0,1360	
	Adre + Hidro	0,0190 *	0,1816	0,0491*

Keterangan : tanda (*) menyatakan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Tabel 5.7 Signifikansi limfosit melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan

Variabel tergantung	Kelompok	Kontrol	Adrenalin	Hidrokortison
Limfosit	Adrenalin	0,0062*		
	Hidrokortison	0,2403	0,2449	
	Adre + Hidro	0,0191*	0,3375	0,1083

Keterangan : tanda (*) menyatakan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Tabel 5.8 Signifikansi eosinofil melalui uji perbedaan antar kelompok perlakuan

Variabel tergantung	Kelompok	Kontrol	Adrenalin	Hidrokortison
Eosinofil	Adrenalin	0,0026 *		
	Hidrokortison	0,0934	0,1374	
	Adre + Hidro	0,0934	0,1374	1,000

Keterangan : tanda (*) menyatakan berbeda nyata ($p < 0,05$)

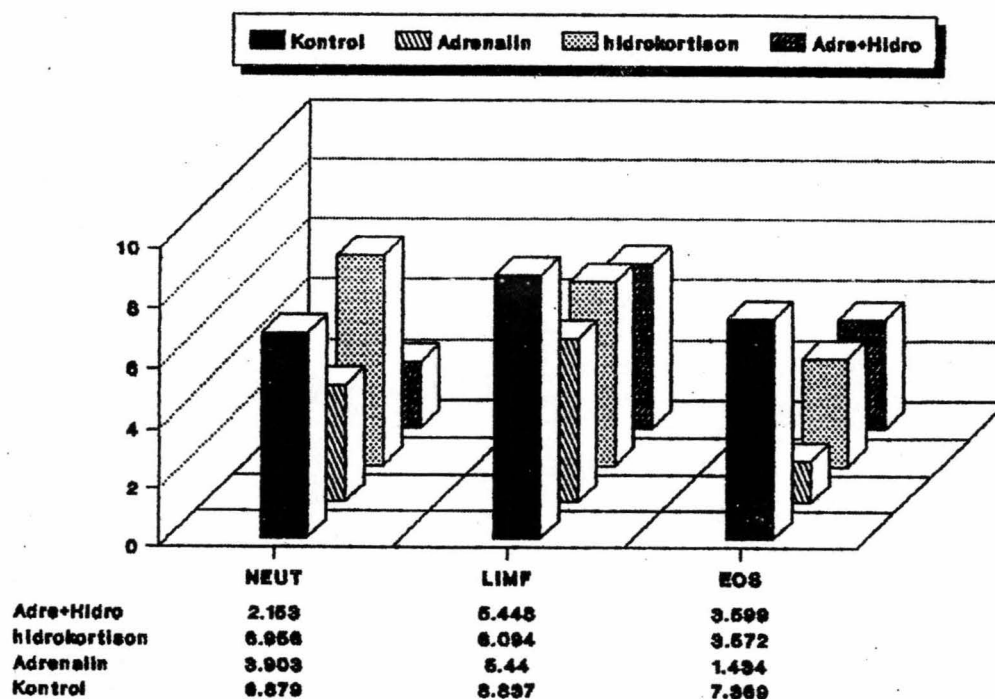
5.5 Penetapan Pola

Untuk mengungkap mekanisme respon mobilisasi pada kelompok kontrol, kelompok adrenalin, kelompok hidrokortison dan kelompok kombinasi hidrokortison dan adrenalin maka dilakukan penetapan pola (lampiran 10). Untuk menetapkan pola diperlukan koefisien diskriminan (tabel 5.5) dikalikan dengan rerata setiap variabel pembeda (tabel 5.2), sehingga di dapatkan harga kontribusi diskriminan setiap variabel (tabel 5.9).

Tabel 5.9 Data kontribusi diskriminan pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison, dan kombinasi adrenalin - hidrokortison

Variabel tergantung	Kontrol		Adrenalin		Hidrokortison		Adre.+ Hidro.	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Neutrofil	6,879	2,746	3,903	2,407	6,956	2,890	2,153	1,000
Limfosit	8,837	2,699	5,440	3,361	6,094	1,901	5,448	2,810
Eosinofil	7,369	3,613	1,434	0,778	3,572	2,502	3,599	1,910

Keterangan : Uji Manova Wilks ($p < 0,05$)



Gambar 5.1 Diagram pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil dalam darah akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison, kombinasi adrenalin-hidrokortison pada tikus putih

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan pola respon mobilisasi sel imunokompeten akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin dan hidrokortison. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Posttest Only Control Group Design*. *Post design* digunakan pada penelitian ini karena sampel darah yang diambil secara intrakardial mengakibatkan kematian hewan coba. Pengambilan darah dilakukan tiga puluh menit setelah perlakuan (Crary *et al.*, 1983a&b).

Variabel moderator pada penelitian ini yaitu, leukosit, eritrosit, hemoglobin, hematokrit dan berat badan tikus. Faktor-faktor tersebut ditentukan sebagai variabel moderator karena dapat menunjang respon ketahanan tubuh imunologik baik langsung maupun tidak langsung. Variabel moderator tersebut diuji melalui uji homogenitas secara anava (lihat tabel 5.1). Uji homogenitas variabel moderator menunjukkan hasil berbeda tidak nyata ($p > 0,05$) pada semua variabel.

Hasil manova terhadap variabel tergantung (tabel 5.2) menunjukkan perbedaan tidak nyata antar kelompok perlakuan (koefisien Wilk's = 0,49547; $p = 0,062$), namun secara analisis univariat (lampiran 6) masih didapatkan perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan pada eosinofil ($p=0,025$) dan neutrofil ($p=0,037$). Atas dasar perbedaan pada eosinofil dan neutrofil tersebut (lihat tabel 5.3), maka analisis dilanjutkan untuk mendapatkan variabel pembeda.

Untuk menajamkan respon sel imunokompeten akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison dan kombinasi adrenalin-hidrokortison digunakan analisis diskriminan. Hasil analisis diskriminan hanya menampilkan tiga variabel pembeda yang kuat (tabel 5.4) yaitu : neutrofil ($p=0,0094$) limfosit ($p=0,0201$) dan eosinofil ($p=0,0248$), sehingga pembahasan lebih lanjut mengenai sel imunokompeten dibatasi pada neutrofil, limfosit dan eosinofil saja.

Sebelum membahas pola respon mobilisasi sel imunokompeten, untuk menjelaskan tujuan khusus penelitian ini mengenai pengaruh adrenalin, hidrokortison maupun kombinasi adrenalin dan hidrokortison terhadap respon mobilisasi pada neutrofil, limfosit dan eosinofil dapat dijelaskan melalui data yang tersaji pada tabel 5.6, 5.7 dan 5.8, mengenai hasil uji perbedaan antar kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Pengaruh adrenalin mengakibatkan respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil yang berbeda nyata bila dibanding kontrol (lihat tabel 5.6, 5.7 dan 5.8). Mobilisasi tersebut mengakibatkan turunnya neutrofil, limfosit dan eosinofil dalam darah (tabel 5.2). Pengaruh adrenalin terhadap neutrofil pada penelitian ini terlihat menurun (tabel 5.2), padahal seharusnya terjadi neutrofilia yang disebabkan neutrofil di tepi pembuluh darah (marginasi) masuk ke dalam sirkulasi (Athens *et al.*, 1961; Crary *et al.*, 1983b; Davis *et al.*, 1991). Hal ini mungkin disebabkan waktu pengamatan tiga puluh menit pasca pemberian adrenalin telah melewati masa leukositosis, karena menurut Lee *et al.*, (1993) pemberian adrenalin secara intramuskular akan mengakibatkan terjadinya dua fase neutrofilia, yaitu pada tujuh belas menit pasca pemberian dan empat jam pasca pemberian. Berkurangnya perlekatan neutrofil setelah injeksi adrenalin mungkin diperantarai oleh aktivitas reseptor beta pada sel

endotel. Begitu juga dengan penurunan eosinofil yang terjadi akibat adrenalin menurut Jain (1986) disebabkan karena efek beta adrenergik. Pada penelitian ini limfosit terlihat menurun (tabel 5.2). Menurut Crary *et al* (1983b) pemberian adrenalin sudah dapat mengakibatkan peningkatan limfosit lima belas menit setelah pemberian adrenalin. Hal ini mungkin disebabkan oleh waktu pengamatan telah melebihi batas waktu terjadinya leukositosis. Adrenalin menyebabkan mobilisasi limfosit secara langsung diaktivasi oleh reseptor limfoid adrenergik (Crary *et al.*, 1983b). Hal ini dikuatkan dengan pendapat Schedlowski *et al.*, (1996) yang menyatakan bahwa perubahan sel imun akibat katekolamin diperantarai oleh reseptor beta-2 daripada reseptor beta-1.

Pengaruh hidrokortison pada penelitian ini mengakibatkan respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil yang berbeda tidak nyata bila dibanding kontrol (lihat tabel 5.6, 5.7 dan 5.8). Hal ini kemungkinan disebabkan waktu pengamatan tiga puluh menit belum memobilisasi sel-sel tersebut secara maksimal, karena perubahan-perubahan tersebut baru terjadi secara maksimal empat sampai enam jam pasca pemberian (Bellanti, 1985; Goldfien, 1998). Meskipun demikian, neutrofil pada kelompok hidrokortison apabila dibandingkan dengan kelompok kombinasi adrenalin dan hidrokortison didapatkan hasil yang berbeda nyata (tabel 5.7). Hal ini disebabkan karena pengaruh hidrokortison dapat mengakibatkan meningkatnya kadar neutrofil, sedangkan kombinasi adrenalin dan hidrokortison mengakibatkan menurunnya neutrofil. Peningkatan neutrofil yang terjadi akibat pemberian hidrokortison kemungkinan disebabkan ditingkatkannya pengeluaran cadangan neutrofil dari sumsum tulang (Toft *et al.*, 1993). Alasan lain terjadinya peningkatan neutrofil adalah adanya penurunan migrasi dari pembuluh darah ke

jaringan tubuh (Miller dan Tyller, 1995) dan bertambah panjangnya masa hidup neutrofil di dalam sirkulasi. (Davis *et al.*, 1991). Seperti yang telah diketahui sebelumnya bahwa dampak glukokortikoid terhadap PMN maupun limfosit adalah melalui penekanan sekresi interleukin-1 (IL-1) (Pimentel, 1994). Dengan tertekannya IL-1 maka pengaturan ekspresi molekul adhesi pada endotel akan menurun, sehingga terjadi penurunan migrasi limfosit dan neutrofil ke area inflamasi (Kresno, 1996).

Pengaruh kombinasi adrenalin dan hidrokortison mengakibatkan respon mobilisasi berupa turunnya neutrofil dan limfosit dalam darah (tabel 5.2). Sedangkan penurunan eosinofil berbeda tidak nyata dengan kontrol. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh hidrokortison yang lebih dominan.

Pencerminan interaksi ketiga komponen sel imunokompeten tersebut diatas yang melatarbelakangi respon mobilisasi diwujudkan dalam bentuk pola. Pola tersebut tidak cukup dicerminkan secara langsung hanya dari rerata setiap komponen, karena nilai setiap komponen tersebut belum mencerminkan interaksi fisiologis yang terjadi. Pola respon mobilisasi sel imunokompeten (gambar 5.1) ditetapkan dari harga kontribusi diskriminan yang merupakan hasil kali antara mean (nilai rerata) masing-masing variabel pembeda (tabel 5.2) dengan masing-masing koefisien diskriminannya (tabel 5.5). Pola respon mobilisasi sel imunokompeten tersebut (tabel 5.9) mampu mencerminkan kontribusi berbagai macam variabel tergantung yang terkuat terhadap mekanisme fisiologis yang terjadi di dalam tubuh. Pola respon mobilisasi ketiga variabel tergantung (neutrofil, limfosit dan eosinofil) merupakan hasil kontribusi interaksi ketiga variabel tersebut yang mempunyai nilai ketepatan pembeda 55%. Pola respon

mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil tersebut menggambarkan respon mobilisasi yang berlangsung di dalam darah. Dari hasil penelitian ini dapat dibuktikan bahwa pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil akibat pengaruh adrenalin, hidrokortison serta kombinasi adrenalin dan hidrokortison berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) (tabel 5.9).

Berdasarkan gambar 5.1 dapat diambil kesimpulan umum bahwa bila pola respon mobilisasi pada perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, maka kemungkinan-kemungkinan yang terjadi pada neutrofil, limfosit atau eosinofil adalah meningkatnya mobilisasi sel-sel tersebut dari pembuluh darah ke jaringan limfoid primer/sekunder, terjadinya marginasi atau adanya ekstravasasi. Sedangkan bila pola respon mobilisasi pada perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, maka kemungkinan-kemungkinan yang terjadi adalah meningkatnya mobilisasi neutrofil, limfosit atau eosinofil tersebut dari jaringan limfoid primer/sekunder ke dalam darah, meningkatnya mobilisasi dari marginal atau belum terjadinya ekstravasasi (Jain, 1986; Roitt *et al.*, 1996). Adrenalin mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada eosinofil dan tertinggi pada limfosit. Hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada eosinofil dan tertinggi pada neutrofil. Sedangkan kombinasi adrenalin dan hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada neutrofil dan tertinggi pada limfosit.

Berdasarkan gambaran pola respon mobilisasi yang berhasil ditetapkan pada penelitian ini dapat dijelaskan bahwa respon mobilisasi neutrofil terendah disebabkan pengaruh hidrokortison, sedangkan respon mobilisasi neutrofil tertinggi disebabkan pengaruh kombinasi adrenalin dan hidrokortison. Dari

penjelasan tersebut diatas, nampaknya terdapat kecenderungan bahwasanya mobilisasi neutrofil dari darah ke jaringan lebih didominasi oleh efek adrenalin daripada hidrokortison. Respon mobilisasi neutrofil tersebut sesuai dengan kondisi fisiologis yang seharusnya terjadi. Kondisi fisiologis yang dimaksud adalah kondisi dimana jaringan membutuhkan keberadaan neutrofil dalam waktu singkat dan jumlah yang banyak di jaringan sebagai garis pertahanan pertama terhadap infeksi, misalnya dalam upaya tubuh menghadapi peradangan. Adrenalin akan meningkatkan aliran darah (Hoffman dan Lefkowitz, 1991). Disamping itu telah diketahui bahwa tertariknya neutrofil ke jaringan disebabkan oleh substansi yang bersifat kemotaktik (neutrofil chemotactic factor = NCF) yang dihasilkan oleh sel mast (Kresno, 1996). Menurut Roitt *et al* (1996) selain NCF, substansi komplemen (C5a) serta leukotrien (LTC₄ dan LTD₄) juga membantu tertariknya neutrofil ke jaringan dalam upaya menanggulangi reaksi inflamasi. Disamping itu dapat dijelaskan pula bahwa respon mobilisasi limfosit terendah disebabkan pengaruh hidrokortison, sedangkan respon mobilisasi limfosit tertinggi disebabkan pengaruh adrenalin. Dari gambaran tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa nampaknya mobilisasi limfosit dari darah ke jaringan lebih didominasi oleh efek adrenalin yang mengakibatkan meningkatnya mobilisasi limfosit teraktivasi ke jaringan yang mengalami inflamasi (Abbas *et al*, 1994). Respon mobilisasi limfosit nampaknya paling rendah bila dibandingkan dengan respon mobilisasi neutrofil maupun eosinofil. Kenyataan ini nampaknya dapat menggambarkan bahwa betapa rendahnya mobilisasi limfosit dari darah ke jaringan. Fenomena tersebut sekaligus menunjukkan bahwa terdapat upaya tubuh untuk mempertahankan resirkulasi limfosit tetap optimal di dalam darah sebagai

langkah *surveillance* imunologik (Dhabbar *et al.*, 1995). Resirkulasi limfosit ini nantinya akan berperan membentuk sistem kekebalan tubuh imunologik (Abbas *et al.*, 1994). Adapun respon mobilisasi eosinofil terendah disebabkan pengaruh kombinasi adrenalin dan hidrokortison, sedangkan respon mobilisasi eosinofil tertinggi disebabkan pengaruh adrenalin. Dari gambaran pola mobilisasi eosinofil tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa nampaknya mobilisasi eosinofil lebih di dominasi oleh pengaruh adrenalin. Respon mobilisasi eosinofil akibat adrenalin yang ditetapkan melalui penelitian ini sesuai dengan kondisi fisiologis yang seharusnya terjadi. Kondisi fisiologis yang dimaksud adalah kondisi dimana jaringan membutuhkan keberadaan eosinofil dalam waktu relatif singkat dalam jumlah banyak, misalnya dalam upaya tubuh menghadapi alergi. Adrenalin akan meningkatkan aliran darah (Hoffman dan Lefkowitz, 1991), disamping itu telah diketahui bahwa tertariknya eosinofil ke jaringan disebabkan oleh substansi yang bersifat kemotaktik (eosinofil chemotactic factor of anaphylaxis = ECF-A) yang dihasilkan oleh sel mast dan basofil (Guyton dan Hall, 1996). Sel mast dan basofil juga dapat mengeluarkan histamin yang dapat menimbulkan reaksi alergi (Kresno, 1996). Eosinofil dapat mengendalikan reaksi alergi tersebut dengan memproduksi histaminase yang dapat menghancurkan histamin yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil (Bellanti, 1985; Roitt *et al.*, 1996).

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Terdapat perbedaan pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil.

1. Adrenalin mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada eosinofil dan tertinggi pada limfosit.
2. Hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada eosinofil dan tertinggi pada neutrofil.
3. Kombinasi adrenalin dan hidrokortison mengakibatkan pola respon mobilisasi terendah pada neutrofil dan tertinggi pada limfosit.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan kajian secara *series* untuk mendapatkan mobilisasi sel imunokompeten yang sesungguhnya terhadap pengaruh adrenalin dan hidrokortison.
2. Perlu dilakukan kajian mekanisme pelepasan sel imunokompeten pada *homing* oleh adrenalin dan hidrokortison.
3. Perlu dilakukan kajian predomnan mobilisasi terhadap organ tertentu akibat adrenalin dan hidrokortison.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman, Pober JS, 1994. **Cellular and molecular immunology**. 2nd edition. Philadelphia : W.B. Saunders Company, pp 225-227.
- Adomian G, Adomian GE and Bellman RE, 1984. Biological system interaction. **Proc. Natl. Acad. Sci** 81: 2938-2940.
- Altman PL and Dittmer DS, 1974. Biology data book. 2nd edition. Maryland : Federation of American Societies for Experimental Biology, pp 1847; 1858.
- Altman LC, Hill JS, Hairfield WM, Mullaeky MF, 1981. Effect corticosteroids on eosinophil chemotaxis and adherence. **J Clin Invest** 67:28.
- Athens JW, Haab OP, Raab SO, Mauer AM, Ashenbrucker H, Cartwright GE and Wintrobe M., 1961. Leukokinetics studies IV. The total blood, circulating and marginal granulocyte pools and the granulocyte turnover rate in normal subjects. **J Clin Invest** 40:989.
- Barbuto JA, Akporiage ET and Hersch EM, 1998. Immunopharmacology. In (Katzung BG, eds). **Basic and clinical pharmacology**. 7th edition. California : Lange Medical Publications, pp 920-921.
- Bellanti JA, 1985. **Immunology III**. Philadelphia : WB Saunders Co, pp 1-15;593-607.
- Brohee D, Vanhaeverbeek M, Kennes B and Neve P, 1990. Leukocyte and lymphocyte subsets after a short pharmacological stress by intravenous epinephrine and hydrocortisone in healthy humans. **Int J Neurosci** 53(2-4):53-62.
- Chapel H and Haeney M, 1993. **Essentials of clinical immunology**. 3rd edition. London : Blackwell Scientific Publications, pp 1-48.
- Crary B, Borysenko M, Sutherland DC, Kutz I, Boryenko JZ and Benson H, 1983a. Decrease in mitogen responsiveness of mononuclear cells from peripheral blood after epinephrine administration in humans. **J of Immunol** 130(2) : 694-697.
- Crary B, Hauser SL, Borysenko M, Kutz I, Hoban C, Ault KA, Weiner HL and Benson H, 1983b. Epinephrine-induced in the distribution of lymphocytes subsets in peripheral blood of human. **J of Immunol** 131(3) : 1178-1181.

- Cryer PE, 1995. Diseases of the sympathochromaffin system. In (Felig P, Baxter JD, Frohman LA, eds). **Endocrinology and metabolism**. 3rd edition . New York : Mc Graw-Hill, Inc., p 715.
- Dale MM and Foreman JC, 1989. **Textbook of immunopharmacology**. 2nd edition. London : Blackwell Scientific Publications, pp 68-70, 77-78.
- Davis JM, Albert JD, Tracy KJ, Calvano SE, Lowry SF and Shires GT, 1991. Increased neutrophil mobilization and decreased chemotaxis during cortisol and epinephrine infusions. **J Trauma** 31(6): 725-731.
- DeChatelet LR, 1977. Oxidative metabolism of human eosinophil. **Blood**, 52:609.
- Dhabbar FS, Miller AH, Mc Ewen BS and Spencer RL, 1995. Effect of stress on immune cell distribution. **J of Immunol** 154:5511-5527.
- Dhabbar FS and Mc Ewen BS, 1996. Stress-induced enhancement of antigen-specific cell-mediated immunity. **J Immunol** 156:2608-2615.
- Frandsen RD, 1986. **Anatomi dan fisiologi ternak**. Edisi 4. Gajah Mada University Press, pp 396, 851-854.
- Ganong WF , 1999. **Review of medical physiology**. 18th edition. Prentice-Hall International Inc, pp 328-331, 336-344.
- Ghosh MN and Schild HO, 1971. **Fundamentals of experimental pharmacology**. Calcuta : Scientific Book Agency, p 85.
- Glasser R, 1990. Psychological stress-induced modulation of interleukin 2 receptor gene expression and interleukin 2 production in peripheral blood leukocytes. **Arc Gen Psychiatry** 47 :707.
- Goldfien A, 1998. Adrenocorticosteroid and adrenocortical antagonist. In (Katzung BG,eds). **Basic and clinical pharmacology**, 7th edition. California : Lange Medical Publications, pp 635-650.
- Goldstone AH, 1990. Medical review of flow cytochemistry information in bone-marrow transplantation. In (Technicon international colloquium on laboratory hematology).

- Guyton AC and Hall JE, 1996. **Textbook of medical physiology**. 9th edition. Philadelphia :WB Saunders Company, pp 440-441, 769-771, 778-779, 762-765.
- Hay JB and Andrade WN, 1998. Lymphocyte recirculation, exercise and immune response. **Can J Physiol Pharmacol** 76(5): 490-496.
- Haynes RC, 1991. Adrenocorticotrophic hormon ; adrenocortical steroids and their synthetic analogs ; inhibitors of the synthetic and actions of adrenocortical hormon. In (Gillman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds). **Goodman Gillman's the pharmacological basis of therapeutics**. 8th edition. Singapore : Pergamon Press, Inc, pp 1447-1451.
- Higgins JE and Kleinbaum AP, 1985. **Design methodology for randomized clinical trials**. USA : Family Health International, pp 24-35.
- Hoffman BB and Lefkowitz RJ, 1991. Catecholamine and simpathomimetic drugs. In (Gillman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds). **Goodman Gillman's the pharmacological basis of therapeutics**. 8th edition. Singapore : Pergamon Press, Inc, pp 187-200 .
- Jain NC, 1986. **Schalm's : Veterinary hematology**. 4th edition. Philadelphia : Lea & Febiger, pp 692-699.
- Kapit W, Macey RI and Meisami E, 1987. **The physiology coloring book**. New York : Harper Collins Publishers, p 119.
- Kresno SB, 1996. **Imunologi : Diagnosis dan prosedur laboratorium**. Edisi ketiga. Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hlm 10-24.
- Kubby J, 1992. **Immunology**. New York : Freeman and Co., pp 1-9.
- Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW and Lukens JN, 1993. **Wintrobe's : Clinical hematology**. 9th edition Philadelphia : Lea & Febiger, pp 274-278, 270-273, 300-302.
- Lehrer RI, Ganz T, Selsted ME, Barbior BM and Curnette JT, 1988. Neutrophils and host defense. **Ann of Int Med** , 109: 127-142.
- Ley K, 1992. Leukocyte adhesion to vascular endothelium. **J Reconstr Microsurg** 8:495-503.
- Male D, 1991. **Immunology**. 2nd Edition. London : Gower Medical Publishing, pp 1-12.

- Miller AH and Norin AJ, 1989. Neural-immune interaction. In (Miller AH, eds). **Depressive disorders and immunity**. Washington : American Psychiatric Press Inc., pp 29-45.
- Miller WL and Tyrell JB, 1995. The adrenal cortex. In (Felig P, Baxter JD, Frohman LA, eds). **Endocrinology and metabolism**. 3rd edition . New York : Mc Graw-Hill, Inc., pp 555-580, 601-603.
- Norin AJ, 1989. Introduction to immunobiologic concepts. In (Miller AH, eds). **Depressive disorders and immunity**. Washington : American Psychiatric Press, Inc., pp 4-5.
- Orth DN and Kovacs WJ, 1998. The Adrenal Cortex. In (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, eds). **Williams Textbook of Endocrinology**. 9th edition. Philadelphia : WB Saunders Co, pp:529-533.
- Picker LJ, Treer JR, Collins PA, Bergstresser PR and Terstappen LW, 1993. Control of lymphocyte recirculation in man. **J Immunology** **150:1122-1136**
- Pimentel E, 1994. **Handbook of growth factors. Volume III : Haemopoietic growth factors and cytokines**. Florida : CRC Press, Inc., pp 36-38.
- Roess DA, Bellone CJ, Ruh MF, Nadel EM and Ruh TS, 1982. The effect of glucocorticoid on mitogen-stimulated B-lymphocytes : Thymidine incorporation and antibody secretion. **Endocrinology** **110(1) : 169-175**.
- Roitt IM, Bostoff J and Male DK, 1996. **Immunology**. 4rd edition. London : Mosby, pp :1.1-1.4; 2.2-2.18; 3.1-3.11; 9.5; 19.1-19.20.
- Schedlowski M, Falk A, Rohne A, Wagner TO, Jacobs R, Tewes U, 1993. Catecholamines induces alterations of distributions and activity of human natural killer cells. **J Clin Immunol** **13(5): 344-351**.
- Schedlowski M, Hosrch W, Oberbeck R, Benschop, Jacob R, Raab H and Schmidt RE, 1996. Catecholamines modulate human NK cell circulation and function via spleen independent beta2-adrenergic mechanism. **J Immunol** **156: 93-99**.
- Schleimer RP, 1981. Inhibition release by anti-inflammatory steroids. **Nature** **249: 581**.
- Setyawan S, Lukas W, Asnar E, Effendi C dan Wardhani T, 1994. Pola respon sel imun darah terhadap pemberian injeksi deksametason pada tikus . Surabaya : Lembaga Penelitian Unair.

- Setyawati A, 1995. Adrenergik . In: (Ganiswara SG, eds). **Farmakologi dan terapi**. Edisi 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hlm 57-76.
- Sharma S, 1996. **Applied multivariate techniques**. New York : John Wiley and Sons, Inc., pp 1-12,185-235,324-371.
- Sigal LH and Ron Y, 1994. **Immunology and inflammation**. New York : Mc Graw-Hill Inc., pp 465-494.
- Stites DP, Terr AI and Parslow TG, 1997. **Medical immunology**. 9th edition. London : Prentice-Hall International, pp 53-55, 123
- Suherman KS, 1995. Adrenokortikotropin , adrenokortikosteroid, analog-sintetik dan antagonisnya. In : (Ganiswara SG, eds). **Farmakologi dan terapi**. Edisi 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hlm 482-500.
- Tizard IR, 1995. **Immunology**. 4th edition. Philadelphia : Saunders College Publisher, p.57.
- Toft P, Svendsen P, Tonnesen E, Rasmussen JW and Christensen NJ, 1993. Redistribution of lymphocytes after major surgical stress. **Acta Anaesthesiol Scand** 37: 245-249.
- Turgeon ML, 1993. **Clinical haematology : Theory and procedures**. 2nd edition. Boston : Little Brown Inc., p 154.
- Vander AJ, Sherman JH and Luciano DS, 1994. **Human physiology**. 6th edition. New York : McGraw-Hill Book Co., pp 696-699.
- Zainuddin M, 1999. **Metodologi penelitian**. Surabaya: Universitas Airlangga, hlm 75.

Lampiran 1. Rumus menentukan jumlah sampel tiap kelompok

(Higgins dan Kleinbaum, 1985)

$$n = \frac{1}{1-f} \frac{2 (Z\alpha + Z\beta) SD^2}{(Xc - Xt)^2}$$

n = jumlah sampel

Xc = rata-rata kelompok kontrol

Xt = rata-rata kelompok perlakuan

SD = simpangan baku kelompok kontrol

f = proporsi yang gagal

Z α = 1,96 (α = 0,05)

Z β = 1,28 (β = 0,10)

Lampiran 2. Penentuan jumlah sampel penelitian

Penelitian pendahuluan

Hasi pemeriksaan yang digunakan adalah yang tertinggi, yaitu pada monosit

N	:	8
Rata-rata kelompok kontrol	:	0,345
Rata-rata kelompok perlakuan	:	0,145
Simpangan baku kelompok kontrol	:	0,134
Proporsi gagal	:	5%
$Z \alpha$ (5%)	:	1,96
$Z \beta$ (10%)	:	1,28

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{1}{(1 - 0,05)} \times \frac{2 (1,96 + 1,28)^2 (0,134)^2}{(0,345 - 0,145)^2} \\
 &= 1,0526 \times \frac{20,9952 \times 0,018}{0,04} \\
 &= 9,944
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. Teknik Flow Cytometry Technicon H-3 (TH-3)
(Goldstone, 1990)

TH-3 dapat dipergunakan untuk :

1. Pemeriksaan darah lengkap (automated complete blood count).
2. Pemeriksaan hitung jenis (automated white blood cells defferential).
3. Pemeriksaan subset limfosit.

Prinsip kerja TH-3 untuk pengukuran sel darah putih

1. Metoda : ukuran sel dan aktivitas myeloperoksidase (mean peroxidase index).
2. Pembacaan sitogram-mean peroxidase index.
3. Sel darah yang diukur : neutrofil, basofil, eosinofil, monosit dan total limfosit.

Cara kerja :

1. Sampel darah sebanyak 1 ml + EDTA diaduk pelan-pelan, kemudian dimasukkan dalam pipa penghisap TH-3 (0,5ml).
2. Mesin TH-3 akan bekerja selama kurang dari 1 menit.
3. Hasil dapat dilihat dilayar monitor, kemudian dicetak.

Lampiran 4. Komposisi normal darah tikus putih dewasa (*Rattus norvegicus*)

(Altman dan Dittmer, 1974)

Kandungan	Nilai normal
Leukosit	(5 -25) x 10 ³ / uL
Eritrosit	(7,2 - 9,6) x 10 ⁶ / uL
Haemoglobin	(12 - 17,5) g/dL
Hematokrit	(42,3 - 61,5) %
Neutrofil	(1,1 - 6) x 10 ³ / uL
Limfosit	(7,0 - 16,0) x 10 ³ / uL
Monosit	(0 - 0,65) x 10 ³ / uL
Eosinofil	(0 - 0,7) x 10 ³ / uL
Basofil	(0 - 0,2) x 10 ³ / uL

Lampiran 5. Cara Menentukan Dosis

Preparat hidrokortison yang digunakan dalam penelitian ini adalah Solu-Cortef (Upjohn) yang mengandung 100 mg hidrokortison dalam 2 ml larutan Naksinat. Sedangkan preparat adrenalin (Ethica) tersedia dalam ampul yang berisi 1 mg adrenalin dalam 1ml larutan. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis terapi yang biasanya digunakan pada manusia dewasa (70 kg). Dosis terapi hidrokortison pada manusia dewasa adalah 100 mg (Haynes, 1991), sedangkan adrenalin 0,5 mg (Hoffman dan Lefkowitz, 1991). Dosis tersebut kemudian dikonversikan untuk dosis tikus didasarkan atas penetapan berat badan 200 gram dengan cara dikalikan **0,018** (Ghosh dan Schild, 1971), sehingga didapatkan dosis tikus untuk hidrokortison sebesar 1,8 mg, sedangkan untuk adrenalin 0,009 mg. Preparat obat-obatan tersebut kemudian diencerkan sedemikian rupa supaya cairan yang diinjeksikan sama volumenya pada masing-masing kelompok.

Lampiran 6. Data asli penelitian

NO	KEL	WBC	RBC	HGB	HCT	BB	NEUT	LIMF	MONO	EOS	BASO
1	1	4.75	8.13	13.7	40.2	173	1.82	2.35	.15	.37	.01
2	1	9.73	7.38	12.8	39.0	207	3.46	5.45	.46	.13	.03
3	1	9.40	6.95	12.0	35.0	172	4.22	3.68	.65	.27	.03
4	1	8.22	7.20	13.4	39.0	193	2.85	4.35	.26	.34	.03
5	1	6.59	8.18	13.7	39.5	189	2.82	2.92	.27	.44	.02
6	1	5.32	8.27	14.9	41.8	232	1.80	2.97	.34	.16	.01
7	1	6.90	7.97	14.8	41.8	206	2.30	3.74	.46	.33	.02
8	1	6.29	8.13	14.6	40.9	205	3.02	2.36	.49	.19	.03
9	1	5.53	7.80	15.0	41.5	182	.52	2.67	1.86	.16	.02
10	1	6.70	7.35	13.6	39.5	150	3.25	2.50	.29	.59	.01
1	2	4.05	7.88	13.6	39.3	134	1.78	1.90	.14	.03	.01
2	2	5.10	8.23	14.1	42.1	181	2.87	1.73	.20	.14	.00
3	2	9.49	7.83	13.4	40.3	178	1.99	7.04	.26	.07	.02
4	2	4.86	7.34	12.4	37.5	187	1.51	3.00	.18	.06	.02
5	2	4.23	8.09	13.7	40.8	205	2.31	1.37	.25	.15	.01
6	2	6.28	7.13	13.0	36.9	139	3.90	1.49	.56	.05	.03
7	2	5.95	8.12	15.4	43.8	170	.62	3.05	1.90	.18	.03
8	2	6.73	7.85	14.0	39.0	174	3.41	2.86	.15	.23	.02
9	2	6.52	8.20	14.2	40.8	150	.61	2.73	2.70	.14	.02
10	2	4.08	7.73	15.1	43.1	175	.45	1.72	1.56	.18	.01
1	3	6.08	6.95	12.8	35.1	175	3.09	2.28	.37	.11	.01
2	3	6.30	7.31	13.2	39.5	187	2.74	2.74	.44	.29	.01
3	3	6.21	7.98	14.5	42.3	181	2.63	2.55	.26	.54	.02
4	3	5.19	7.49	14.1	42.2	146	.82	1.81	2.36	.09	.01
5	3	5.46	7.37	13.1	39.1	172	2.61	2.35	.20	.23	.01
6	3	6.81	7.64	14.1	39.3	195	3.02	3.11	.36	.16	.02
7	3	7.46	8.15	15.0	42.5	169	.68	4.72	1.66	.29	.02
8	3	6.99	7.67	14.7	40.9	194	2.96	3.50	.24	.19	.02
9	3	7.16	7.90	14.1	38.8	205	4.14	2.65	.21	.08	.02
10	3	5.81	7.35	13.3	37.3	155	3.56	1.87	.15	.07	.01
1	4	6.70	7.53	12.9	38.9	196	1.33	2.03	2.72	.33	.02
2	4	3.96	8.66	14.5	43.0	185	1.82	1.49	.26	.23	.01
3	4	4.84	7.49	12.8	38.2	147	2.00	2.23	.25	.28	.01
4	4	3.69	8.06	13.4	39.3	177	1.58	1.62	.21	.13	.00
5	4	6.64	8.03	13.9	39.8	171	2.07	3.86	.24	.11	.02
6	4	5.95	6.97	12.4	36.7	184	.36	4.20	1.07	.01	.02
7	4	3.36	7.57	14.3	40.4	184	.33	1.58	1.11	.23	.01
8	4	8.89	7.52	13.9	39.5	178	.99	5.26	2.42	.12	.03
9	4	5.93	7.72	15.2	42.8	225	1.98	2.83	.50	.35	.02
10	4	3.89	8.13	13.9	40.9	175	1.94	1.29	.16	.26	.01

Keterangan :

- Kel 1 = kelompok kontrol
- Kel 2 = kelompok adrenalin
- Kel 3 = kelompok hidrokortison
- Kel 4 = kelompok kombinasi adrenalin dan hidrokortison
- WBC = leukosit
- RBC = eritrosit
- HGB = haemoglobin
- HCT = hematokrit
- BB = berat badan
- Neut = neutrofil
- Limf = limfosit
- Mono = monosit
- Eos = eosinofil
- Baso = basofil

Lampiran 7. Uji Anava pada variabel moderator (leukosit, eritrosit, haemoglobin, hematokrit dan berat badan)

----- D N E W A Y -----

Variable WBC
By Variable KEL

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	14.2052	4.7351	2.0458	.1248
Within Groups	36	83.3236	2.3145		
Total	39	97.5288			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	10	6.9430	1.6828	.5322	4.7500	9.7300	5.7392 To 8.1468
Grp 2	10	5.7290	1.6687	.5277	4.0500	9.4900	4.5353 To 6.9227
Grp 3	10	6.3470	.7479	.2365	5.1900	7.4600	5.8120 To 6.8820
Grp 4	10	5.3850	1.7557	.5552	3.3600	8.8900	4.1291 To 6.6409
Total	40	6.1010	1.5814	.2500	3.3600	9.7300	5.5953 To 6.6067
Fixed Effects Model		1.5214	.2405				5.6131 To 6.5889
Random Effects Model			.3441				5.0061 To 7.1959
Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance							.2421

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variiances) = .3329, P = .797 (Approx.)
 Bartlett-Box F = 2.146, P = .093
 Maximum Variance / Minimum Variance 5.511

Tukey-HSD Procedure

Ranges for the .050 level -

3.81 3.81 3.81

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$1.0758 * Range * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$$

No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

Lanjutan lampiran 7.

----- ONEWAY -----

Variable RBC
By Variable KEL

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	.3577	.1192	.6759	.5725
Within Groups	36	6.3513	.1764		
Total	39	6.7090			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	10	7.7360	.4752	.1503	6.9500	8.2700	7.3961 To 8.0759
Grp 2	10	7.8400	.3637	.1150	7.1300	8.2300	7.5798 To 8.1002
Grp 3	10	7.5810	.3612	.1142	6.9500	8.1500	7.3226 To 7.8394
Grp 4	10	7.7680	.4660	.1474	6.9700	8.6600	7.4346 To 8.1014
Total	40	7.7313	.4148	.0656	6.9500	8.6600	7.5986 To 7.8639
Fixed Effects Model			.4200	.0664			7.5966 To 7.8659
Random Effects Model				.0664			7.5199 To 7.9426

WARNING - Between component variance is negative
it was replaced by 0.0 in computing above random effects measures

Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance - .0057

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variiances) = .3200, P = .928 (Approx.)
Bartlett-Box F = .388, P = .762
Maximum Variance / Minimum Variance 1.731

Tukey-HSD Procedure

Ranges for the .050 level -

3.81 3.81 3.81

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..
.2970 * Range * Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

Lanjutan lampiran 7.

----- ONEWAY -----

Variable HGB
By Variable KEL

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	.1948	.0649	.0846	.9680
Within Groups	36	27.6190	.7672		
Total	39	27.8137			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	10	13.8500	.9846	.3114	12.0000	15.0000	13.1457 To 14.5543
Grp 2	10	13.8900	.8987	.2842	12.4000	15.4000	13.2471 To 14.5329
Grp 3	10	13.8900	.7475	.2364	12.8000	15.0000	13.3553 To 14.4247
Grp 4	10	13.7200	.8561	.2707	12.4000	15.2000	13.1076 To 14.3324
Total	40	13.8375	.8445	.1335	12.0000	15.4000	13.5674 To 14.1076
Fixed Effects Model			.8759	.1385			13.5566 To 14.1184
Random Effects Model				.1385			13.3968 To 14.2782

WARNING - Between component variance is negative
it was replaced by 0.0 in computing above random effects measures

Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance - .0702

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variiances) = .3159, P = .973 (Approx.)
Bartlett-Box F = .222, P = .881
Maximum Variance / Minimum Variance 1.735

Tukey-HSD Procedure

Ranges for the .050 level -

3.81 3.81 3.81

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..
.6194 * Range * Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

Lanjutan lampiran 7.

----- ONEWAY -----

Variable HCT
By Variable KEL

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	2.4727	.8242	.1775	.9109
Within Groups	36	167.1250	4.6424		
Total	39	169.5977			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	10	39.8200	2.0209	.6391	35.0000	41.8000	38.3743 To 41.2657
Grp 2	10	40.3600	2.2579	.7140	36.9000	43.8000	38.7448 To 41.9752
Grp 3	10	39.7000	2.3707	.7497	35.1000	42.5000	38.0041 To 41.3959
Grp 4	10	39.9500	1.9409	.6138	36.7000	43.0000	38.5615 To 41.3385
Total	40	39.9575	2.0853	.3297	35.0000	43.8000	39.2906 To 40.6244
Fixed Effects Model			2.1546	.3407			39.2666 To 40.6484
Random Effects Model				.3407			38.8733 To 41.0417

WARNING - Between component variance is negative
it was replaced by 0.0 in computing above random effects measures

Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance - .3818

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variiances) = .3026, P = 1.000 (Approx.)
Bartlett-Box F = .150, P = .930
Maximum Variance / Minimum Variance 1.492

Tukey-HSD Procedure
Ranges for the .050 level -

3.81 3.81 3.81

The ranges above are table ranges.
The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..
 $1.5235 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

Lanjutan lampiran 7.

----- O N E W A Y -----

Variable BB
By Variable KEL

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	2425.2750	808.4250	1.8484	.1559
Within Groups	36	15745.5000	437.3750		
Total	39	18170.7750			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	10	190.9000	23.1250	7.3128	150.0000	232.0000	174.3574 To 207.4426
Grp 2	10	169.3000	22.0910	6.9858	134.0000	205.0000	153.4971 To 185.1029
Grp 3	10	177.9000	18.3875	5.8146	146.0000	205.0000	164.7464 To 191.0536
Grp 4	10	182.2000	19.7135	6.2340	147.0000	225.0000	168.0978 To 196.3022
Total	40	180.0750	21.5851	3.4129	134.0000	232.0000	173.1717 To 186.9783
Fixed Effects Model		20.9135	3.3067				173.3687 To 186.7813
Random Effects Model			4.4956				165.7681 To 194.3819
Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance						37.1050	

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variations) = .3057, P = 1.000 (Approx.)
 Bartlett-Box F = .186, P = .906
 Maximum Variance / Minimum Variance 1.582

Multiple Range Test

Tukey-HSD Procedure

Ranges for the .050 level -

3.81 3.81 3.81

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

14.7881 * Range * Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

Lampiran 8. Uji Manova pada variabel tergantung (neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil dan basofil)

MAN neut limf mono eos baso by kel(1,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

40 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

4 non-empty cells.

1 design will be processed.

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. NEUT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	2.606	1.040	10	1.862	3.350
KEL	Adrenali	1.945	1.199	10	1.087	2.803
KEL	Hidrokor	2.625	1.091	10	1.845	3.405
KEL	adre+hid	1.440	.669	10	.961	1.919
For entire sample		2.154	1.100	40	1.802	2.506

Variable .. LIMF

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	3.299	1.008	10	2.578	4.020
KEL	Adrenali	2.689	1.662	10	1.500	3.878
KEL	Hidrokor	2.758	.860	10	2.143	3.373
KEL	adre+hid	2.639	1.361	10	1.665	3.613
For entire sample		2.846	1.242	40	2.449	3.243

Variable .. MONO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	.523	.491	10	.172	.874
KEL	Adrenali	.790	.922	10	.130	1.450
KEL	Hidrokor	.625	.754	10	.086	1.164
KEL	adre+hid	.894	.951	10	.213	1.575
For entire sample		.708	.783	40	.458	.958

Variable .. EOS

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	.298	.146	10	.193	.403
KEL	Adrenali	.123	.067	10	.075	.171
KEL	Hidrokor	.205	.144	10	.102	.308
KEL	adre+hid	.205	.109	10	.127	.283
For entire sample		.208	.132	40	.166	.250

Variable .. BASO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	.021	.009	10	.015	.027
KEL	Adrenali	.017	.009	10	.010	.024
KEL	Hidrokor	.015	.005	10	.011	.019
KEL	adre+hid	.015	.008	10	.009	.021
For entire sample		.017	.008	40	.014	.020

Ratna Damayanti

Lanjutan lampiran 8.

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1*****

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 3, M = 1/2, N = 15)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.60203	1.70719	15.00	102.00	.061
Hotellings	.83011	1.69711	15.00	92.00	.065
Wilks	.49547	1.71370	15.00	88.74	.062
Roys	.33861				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dum. Pct.	Canon Cor.
1	.51196	61.67413	61.67413	.58190
2	.25158	30.30709	91.98122	.44834
3	.06656	8.01878	100.00000	.24982

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 3	.49547	1.71370	15.00	88.74	.062
2 TO 3	.74912	1.28185	8.00	66.00	.268
3 TO 3	.93759	.75440	3.00	34.00	.527

Univariate F-tests with (3,36) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
NEUT	9.79622	37.42434	3.26541	1.03956	3.14113	.037
LIMF	2.80451	57.32003	.93484	1.59222	.58713	.627
MONO	.82434	23.08130	.27478	.64115	.42858	.734
EOS	.15343	.52427	.05114	.01456	3.51180	.025
BASO	.00024	.00240	.00008	.00007	1.20000	.324

Averaged F-test with (15,180) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	13.57873	118.35234	.90525	.65751	1.37678	.163

Lampiran 9. Hasil uji diskriminan

dsc group kel(1,4)/VAR neut limf mono eos baso/met rao/PIN=0.5/POUT=0.5/ana all/stat all.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

40 (unweighted) cases were processed.
0 of these were excluded from the analysis.
40 (unweighted) cases will be used in the analysis.

Number of Cases by Group

KEL	Number of Cases		Label
	Unweighted	Weighted	
1	10	10.0	Kontrol
2	10	10.0	Adrenalin
3	10	10.0	Hidrokortison
4	10	10.0	adre+hidr
Total	40	40.0	

Group Means

KEL	NEUT	LIMF	MONO	EOS	BASO
1	2.60600	3.29900	.52300	.29800	.02100
2	1.94500	2.68900	.79000	.12300	.01700
3	2.62500	2.75800	.62500	.20500	.01500
4	1.44000	2.63900	.89400	.20500	.01500
Total	2.15400	2.84625	.70800	.20775	.01700

Group Standard Deviations

KEL	NEUT	LIMF	MONO	EOS	BASO
1	1.04021	1.00771	.49135	.14612	.00876
2	1.19947	1.66158	.92200	.06667	.00949
3	1.09079	.86032	.75357	.14362	.00527
4	.66910	1.36103	.95142	.10876	.00850
Total	1.10036	1.24163	.78292	.13182	.00823

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio
with 3 and 36 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
NEUT	.79254	3.141	.0370
LIMF	.95336	.5871	.6274
MONO	.96552	.4286	.7337
EOS	.77360	3.512	.0248
BASO	.90909	1.200	.3236

Lanjutan lampiran 9.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number 1

Stepwise variable selection

Selection rule: Maximize Rao's V

Maximum number of steps..... 10
 Minimum Tolerance Level..... .00100
 Maximum significance of F to enter..... .50000
 Minimum significance of F to remove..... .50000
 Minimum increase in Rao's V..... .00000

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 3
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .25000

----- Variables not in the analysis after step 0 -----

Variable	Minimum Tolerance	Signif. of Tolerance F to enter	Rao's V
NEUT	1.0000000	1.0000000 .0370	9.423384
LIMF	1.0000000	1.0000000 .6274	
MONO	1.0000000	1.0000000 .7337	
EOS	1.0000000	1.0000000 .0248	10.53539
BASO	1.0000000	1.0000000 .3236	3.600000

At step 1, EOS was included in the analysis.

Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
.77360	1 3	36.0
Equivalent F	3	36.0 .0248
RAO'S V	3	.0145 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 1 -----

Variable	Signif. of Tolerance F to remove	Rao's V
EOS	1.0000000 .0248	

----- Variables not in the analysis after step 1 -----

Variable	Minimum Tolerance	Signif. of Tolerance F to enter	Rao's V
NEUT	.9981674	.9981674 .0543	19.58291
LIMF	.9652744	.9652744 .4309	14.13371
MONO	.9972298	.9972298 .8131	
BASO	.9867052	.9867052 .2776	15.20821

Ratna Damayanti

Lanjutan lampiran 9:

F statistics and significances between pairs of groups after step 1
 Each F statistic has 1 and 36.0 degrees of freedom.

Group	Group 1 Kontrol	Group 2 Adrenali n	Group 3 Hidrokor tison
2 Adrenali n	10.515 .0026		
3 Hidrokor tison	2.9695 .0934	2.3086 .1374	
4 adre+hid r	2.9695 .0934	2.3086 .1374	.00000 1.0000



At step 2, NEUT was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.62389	2 3	36.0	
Equivalent F	3.10370	6	70.0	.0094
RAO'S V	19.58291	6		.0033 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
NEUT	.9981674	.0543	
EOS	.9981674	.0369	

----- Variables not in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
LIMF	.9603781	.9603781	.4151	23.73150
MONO	.5811914	.5811914	.7482	
BASO	.9727122	.9727122	.3477	23.69928

F statistics and significances between pairs of groups after step 2
 Each F statistic has 2 and 35.0 degrees of freedom.

Group	Group 1 Kontrol	Group 2 Adrenali n	Group 3 Hidrokor tison
2 Adrenali n	5.9481 .0060		
3 Hidrokor tison	1.4500 .2483	2.1129 .1360	
4 adre+hid r	4.4470 .0190	1.7918 .1816	3.2892 .0491



Lanjutan lampiran 9.

At step 3, LIMF was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.57439	3	3	36.0
Approximate F	2.35665	9	82.9	.0201
RAO'S V	23.73150	9		.0047 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	F to remove	Signif. of	Rao's V
NEUT	.9931043	.0553		
LIMF	.9603781	.4151		
EOS	.9644690	.0262		

----- Variables not in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
MONO	.5771078	.5771078	.7805	
RASD	.6773811	.6687918	.6096	

F statistics and significances between pairs of groups after step 3
 Each F statistic has 3 and 34.0 degrees of freedom.

Group	Group 1	Group 2	Group 3
	Kontrol	Adrenali	Hidrokor
		n	tison
2 Adrenali	4.8872		
n	.0062		
3 Hidrokor	1.4692	1.4521	
tison	.2403	.2449	
4 adre+hid	3.7883	1.1646	2.1807
r	.0191	.3375	.1083

F level or tolerance or VIN insufficient for further computation.

Summary Table

Step	Action	Vars	Wilks' Lambda	Sig.	Rao's V	Sig.	Change in V	Sig.	Label
1	EOS	1	.77360	.0248	10.53539	.0145	10.53539	.0145	
2	NEUT	2	.62389	.0094	19.58291	.0033	9.04752	.0287	
3	LIMF	3	.57439	.0201	23.73150	.0047	4.14859	.2459	

Classification Function Coefficients
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

KEL	=	1	2	3	4
		Kontrol	Adrenali	Hidrokor	adre+hid
			n	tison	r
NEUT		2.639739	2.006884	2.649786	1.495226
LIMF		2.678763	2.022771	2.209447	2.064454
EOS		24.72756	11.66193	17.42344	17.55851
(constant)		-12.92890	-6.775082	-9.696868	-6.986651

TESIS :

Ratna Damayanti

Lanjutan lampiran 9.

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	.49931	75.74	75.74	.5770852	: 0	.5743895	19.683	9	.0200
2*	.15138	22.96	98.71	.3626021	: 1	.8611890	5.3052	4	.2574
3*	.00851	1.29	100.00	.0918721	: 2	.9915595	.30091	1	.5833

* marks the 3 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
NEUT	.58323	.80652	-.12771
LINF	.47220	-.10886	.89801
EOS	.75854	-.62665	-.26223

Structure Matrix:

Pooled-within-groups correlations between discriminating variables
and canonical discriminant functions
(Variables ordered by size of correlation within function)

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
EOS	.69551*	-.57184	-.43504
NEUT	.57893	.78817*	-.20888
MONO	-.36157	-.50137*	.20196
LINF	.28543	-.05490	.95683*
BASO	.23631	.10418	.50589*

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
NEUT	.5720262	.7910231	-.1252539
LINF	.3742203	-.8626751E-01	.7116748
EOS	6.285668	-5.192600	-2.172970
(constant)	-3.603117	-.3795207	-1.304373

Canonical Discriminant Functions evaluated at Group Means (Group Centroids)

Group	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
1	.99527	-.15017	.06949
2	-.71111	.28833	.09843
3	.21911	.39447	-.11582
4	-.50327	-.53263	-.05209

Lanjutan lampiran 9.

Test of equality of group covariance matrices using Box's M

The ranks and natural logarithms of determinants printed are those of the group covariance matrices.

Group Label	Rank	Log Determinant
1 Kontrol	3	-4.268112
2 Adrenalin	3	-4.107623
3 Hidrokortison	3	-4.258453
4 adre+hidr	3	-5.263750
Pooled Within-Groups Covariance Matrix	3	-3.767596

Box's M	Approximate F	Degrees of freedom	Significance
25.448	1.1955	18,	4579.7 .2546

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number 2
 Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.
 Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 3
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .25000

Classification Function Coefficients
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

KEL	=	1	2	3	4
		Kontrol	Adrenali n	Hidrokor tison	adre+hid r
NEUT		5.585695	4.996563	6.458614	4.323017
LINF		2.946353	2.388442	2.993576	2.468752
MONO		5.506473	5.524574	6.822460	5.185711
EOS		25.02932	11.93049	17.63777	17.78900
BAGD		-138.0723	-165.5591	-297.1997	-172.4716
(constant)		-17.24402	-10.96539	-15.70226	-10.60423

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-square	D.F.	Significance
1†	.51196	61.67	61.67	.5818998	: 0	.4954652	24.228	15	.0613
2†	.25158	30.31	91.98	.4483422	: 1	.7491242	9.9653	8	.2675
3†	.06656	8.02	100.00	.2498203	: 2	.9375898	2.2233	3	.5274

TESIS

Ratna Damayanti

† marks the 3 canonical discriminant functions remaining in the analysis
 Pengaruh Hidrokortison Dan Adrenalin Terhadap Proliferasi Respon Mobilisasi Sel Imunokompeten Dalam Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus): Penelitian Eksperimental Laboratoris

Lanjutan lampiran 9.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 3

List of the 3 Variables used..

Variable Label

NEUT
LINF
EOS

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership			
		1	2	3	4
Group 1 Kontrol	10	7 70.0%	1 10.0%	1 10.0%	1 10.0%
Group 2 Adrenalin	10	1 10.0%	3 30.0%	3 30.0%	3 30.0%
Group 3 Hidrokortison	10	2 20.0%	1 10.0%	6 60.0%	1 10.0%
Group 4 adre+hidr	10	1 10.0%	3 30.0%	0 .0%	6 60.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 55.00%

Classification Processing Summary

- 40 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 40 Cases were used for printed output.

Lampiran 10. Pola respon mobilisasi neutrofil, limfosit dan eosinofil pada kelompok kontrol, adrenalin, hidrokortison, kombinasi adrenalin dan hidrokortison

POLA

MAN neut limf eos by kel(1,4)/pri cell (all)/pri hmo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

40 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

4 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2   3   4
Variable
KEL            1   2   3   4
  
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. NEUT

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	6.879	2.746	10	4.915	8.843
KEL	Adrenali	3.903	2.407	10	2.181	5.625
KEL	Hidrokor	6.956	2.890	10	4.888	9.023
KEL	adre+hid	2.153	1.000	10	1.437	2.869
For entire sample		4.973	3.083	40	3.987	5.959

Variable .. LIMF

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	8.837	2.699	10	6.906	10.768
KEL	Adrenali	5.440	3.361	10	3.035	7.844
KEL	Hidrokor	6.094	1.901	10	4.734	7.453
KEL	adre+hid	5.448	2.810	10	3.438	7.458
For entire sample		6.455	2.993	40	5.498	7.412

Variable .. EOS

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
KEL	Kontrol	7.369	3.613	10	4.784	9.954
KEL	Adrenali	1.434	.778	10	.878	1.991
KEL	Hidrokor	3.572	2.502	10	1.782	5.362
KEL	adre+hid	3.599	1.910	10	2.233	4.966
For entire sample		3.994	3.182	40	2.976	5.011

Lanjutan lampiran 10.

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 *****

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 3, M = -1/2, N = 16)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.95292	5.58606	9.00	108.00	.000
Hotellings	2.17237	7.88489	9.00	98.00	.000
Wilks	.25173	7.02402	9.00	82.90	.000
Roys	.63217				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	1.71868	79.11559	79.11559	.79509
2	.43652	20.09423	99.20982	.55125
3	.01717	.79018	100.00000	.12991

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 3	.25173	7.02402	9.00	82.90	.000
2 TO 3	.68438	3.65387	4.00	70.00	.009
3 TO 3	.98312	.61796	1.00	36.00	.437

Univariate F-tests with (3,36) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
NEUT	166.60258	204.20521	55.53419	5.67237	9.79030	.000
LIMF	78.50187	270.84114	26.16729	7.52337	3.47814	.026
EOS	182.74708	212.11565	60.91569	5.89210	10.33853	.000

Averaged F-test with (9,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 3	427.85153	687.16200	47.53906	6.36261	7.47163	.000

Lanjutan lampiran 10.

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 *****

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1/2, N = 16)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.94092	180.49367	3.00	34.00	.000
Hotellings	15.92591	180.49367	3.00	34.00	.000
Wilks	.05908	180.49367	3.00	34.00	.000
Ruys	.94092				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dim. Pct.	Canon Cor.
1	15.92591	100.00000	100.00000	.97001

Univariate F-tests with (1,36) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
NEUT	989.16580	204.20521	989.16580	5.67237	174.38325	.000
LINF	1666.52055	270.84114	1666.52055	7.52337	221.51265	.000
EOS	637.96403	212.11565	637.96403	5.89210	108.27445	.000

Averaged F-test with (3,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 3	3293.65038	687.16200	1097.88346	6.36261	172.55234	.000