

1. LASERS
  2. PULPITIS
  3. IMMUNE RESPONSE
- IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Diterbitkan untuk  
Ujian Tahap II

## DISERTASI

# PENGARUH BIOMODULASI LASER GALLIUM ALUMINUM ARSENICUM TERHADAP PERUBAHAN RESPONS IMUN PULPITIS

SUATU PENDEKATAN PATOBIOLOGIS  
YANG BERKONSEP PADA *STRESS IMMUNOCOMPETENT CELL*



KK  
DTS  
DK K 24/102  
Nug  
P.

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**NUGROHOWATI PB**

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999

**PENGARUH BIOMODULASI LASER  
GALLIUM ALUMINUM ARSENICUM TERHADAP  
PERUBAHAN RESPONS IMUN PULPITIS**

SUATU PENDEKATAN PATOBIOLOGIS  
YANG BERKONSEP PADA *STRESS IMMUNOCOMPETENT CELL*

Disertasi

Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Ilmu Kedokteran  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga

**Prof H Soedarto dr, DTM&H, PhD**

Untuk dipertahankan di hadapan  
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga

**NUGROHOWATI PB**  
NIM 099311483 D

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999

## Lembar Pengesahan

Disertasi ini disetujui untuk diuji pada ujian tahap II

Tanggal 12 Mei 1999

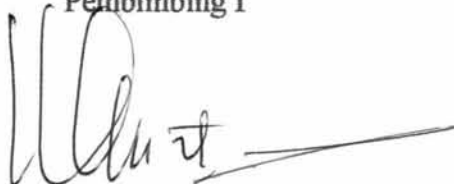
Oleh :

Pembimbing Utama



Prof Dr Roem Werdiniadi Soedoko, dr  
NIP 130 197 905

Pembimbing I



Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS  
NIP 130 934 682

Pembimbing II



Dr Soegijanto Adi, drg., MSc  
NIP 130 345 897

Telah diuji pada ujian tertutup  
Tanggal 19 Maret 1999

---

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

- Ketua : Prof Dr R Pitono Soeparto, dr
- Anggota : 1. Prof Dr Roemwerdiniadi Soedoko, dr  
2. Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS  
3. Dr Soegijanto Adi, drg, MS  
4. Prof Dr Siti Sumarijah, drg  
5. Prof Rachmat Santoso, dr  
6. Dr Soetopo, drg, MSc  
7. Dr M Zainuddin, Apt  
8. Dr FM Judajana, dr

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor Universitas Airlangga  
Nomor : 2606/J03/PP/1999  
Tanggal : 30 Maret 1999

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan YME atas segala rahmat karunia dan penyertaan-Nya sehingga setelah menempuh serangkaian penelitian dan penulisan, disertasi ini akhirnya dapat saya selesaikan.

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

Almarhum Prof RM Gardjito, drg selaku Promotor dan pendidik yang penuh perhatian dan tanggung jawab telah menghantar saya dari pendidikan strata 2 sampai menempuh seminar untuk mempersiapkan ujian usulan penelitian program Doktor. Segenap dedikasi, yang beliau berikan semasa hidup mengingatkan terhadap langkah pemikiran saya, tentu sulit untuk dilupakan. Semoga Tuhan Yang Maha Pengasih melimpahkan karunia bagi keluarga yang ditinggalkan.

Almarhum Prof R Hartono, drg selaku Promotor baru, yang dengan kesabaran dan keramahannya bersedia melanjutkan bimbingan. Banyak bantuan dan saran diberikan sebagai petunjuk praktis berkaitan dengan penelitian. Berkat beliaulah saya menyelesaikan ujian usulan penelitian. Namun Tuhan telah memanggil beliau sebelum saya dapat menyelesaikan penelitian. Walaupun tinggal kenangan, namun segala petunjuk dan kebaikan beliau memberikan arti tersendiri. Semoga Tuhan selalu melindungi keluarga yang ditinggalkan.

Prof Dr Thomas Kardjito, dr selaku Promotor baru, yang telah dengan tulus menyediakan diri guna melanjutkan bimbingan untuk penyelesaian pendidikan

doktor saya. Pengarahan dan dorongan semasa bimbingan memberikan semangat agar saya tetap tegar menyelesaikan pendidikan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas budi baik beliau dan melimpahkan kesehatan dalam masa purna tugas.

Prof Dr Roemwerdiniadi S, dr yang secara tulus menyediakan diri sebagai Promotor baru guna melanjutkan bimbingan dalam jangka pendidikan saya yang terbatas. Seluruh bimbingan, bantuan dan dukungan yang selama ini disampaikan dengan penuh kesabaran sangat besar maknanya bagi keberhasilan saya menempuh pendidikan doktor ini.

Almarhum Prof Abdoelbasir, drs selaku mantan Ko-Promotor I yang selanjutnya sebagai konsultan dalam bidang fisika laser, dalam memberikan masukan dan dukungan yang sangat berharga sejak awal masa studi saya sampai menjelang ujian disertasi tahap I.

Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS yang tetap sabar mendampingi saya selaku Ko-Promotor II yang selanjutnya menjadi Ko-Promotor I yang sejak awal pendidikan telah memberikan dorongan, bimbingan, bantuan tanpa mengenal lelah. Beliau telah banyak memberikan penambahan ilmu khususnya patobiologi dan psikoneuroimunologi serta arahan tentang penelitian berkonsep yang sangat mendasar dan penting bagi penyelesaian disertasi ini.

Dr Soegijanto Adi, drg, MSc selaku Ko-Promotor II yang dengan tulus menyediakan waktu untuk membimbing dan memberikan saran yang bermanfaat. Segala upaya yang telah beliau curahkan tentu sangat berperan bagi penyelesaian disertasi ini.

Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan dan Kebudayaan melalui Tim Manajemen Program Doktor yang telah menyetujui pemberian bantuan finansial.

Rektor Universitas Airlangga, Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD dan mantan Rektor Universitas Airlangga Prof H Bambang Rahino Setokoesoemo, dr, yang telah memberikan kesempatan mengikuti pendidikan Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Soedijono, dr dan mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof Dr Soetarjadi, Apt yang telah memberikan kesempatan dan dorongan dari awal sampai akhir pendidikan program Doktor.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr Juliati Hood A, dr, MS, SpPA, FIAC dan mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof R Pitono Soeparto, dr, SpA(K) yang telah memberi petunjuk bermanfaat selama studi saya.

Staf pengajar program studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Airlangga atas segala bekal ilmu dan bimbingan yang telah diberikan kepada saya, Dr M Zainuddin Apt; Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS; Dr Soetopo, drg, MSc yang selalu memberikan arahan praktis dan masukan hal yang berkaitan dengan pokok materi penelitian serta dorongan moral pada saat saya menghadapi kesulitan selama penelitian dan penulisan disertasi ini. Juga kepada Prof Bambang Rahino Setokoesoemo dr; Prof Abdul Gani, SH, MS; Prof Eddy Pranowo Soediby, dr, MPH; Prof Dr Pitono Soeparto, dr, DSAK; Prof Dr Thomas Kardjito, dr; Prof

Poernomo S, dr; Prof Dr PG Konthen dr; Prof Rahmat Santoso, dr; Widodo J Pudjirahardjo, dr, MS, MPH, DrPH; Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD; Prof Dr Noer Rachman, dr; Prof Dr Joes Priatna Dahlan, dr, MS; Dr FM Judajana, dr; Prof J Glinka; Dr Theodorus I Setiawan; Prof Sutandyo Wignjosubroto, Dr Sarmanu, drh, MS; Irwan S, dr; Dr Julia Maria, drg, MS dan staf pengajar yang lain yang selama ini telah dengan ikhlas memberikan tambahan bekal ilmu dan wawasan yang sangat berguna.

Panitia Seminar pra-ujian dan Panitia Penguji Disertasi Tahap I, yaitu : Prof Dr R Pitono Soeparto, dr, SpA(K); Prof Dr Roemwerdiniadi Soedoko, dr; Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS; Dr Soegijanto Adi, drg, MSc; Prof Dr Siti Sumarijah, drg; Prof Rahmat Santoso, dr; Dr Soetopo, drg, MSc; Dr M Zainuddin, Apt; Dr FM Judajana, dr.

Para penguji Kelaikan Etik Penelitian FKG Unair, Prof Dr Retno Laksmningsih Soebagyo, drg, MHPed ; Adi Hapsoro, drg, MS beserta tim.

Koordinator Kopertis Wilayah III, Prof dr H Arjatmo Tjokronegoro, PhD, dan mantan Koordinator Kopertis Wilayah III, Prof Ir Sambas Wirakusumah, MSc. Atas persetujuannya saya menempuh program Doktor.

Rektor Universitas Prof Dr Moestopo (Beragama), H Wibowo, SE, MPhil beserta staf atas segala kebijaksanaan dan dukungan bagi keberhasilan pendidikan.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi UPDM(B) Sri Latiyah, drg, MM dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi UPDM (B) Ny PA Soelaeman, drg beserta staf atas rekomendasi, ijin, perhatian serta dorongan, bantuan dana yang diberikan kepada saya selaku staf pengajar untuk terlaksananya pendidikan Program Doktor.



Kepala Dinas Kesehatan DKI, Marlis, drg selaku Kepala Bagian Gigi dan Mulut Dinas Kesehatan DKI Jakarta, Kepala Sudin Kesehatan Jakarta Timur, Mariana, drg selaku Kepala Bagian Kesehatan Gigi dan Mulut Sudin Jakarta Timur, Kepala Puskesmas Pembina Kecamatan Jatinegara dan Matraman, khususnya H Ristiyani, dr beserta Kepala Puskesmas Kelurahan yang terkait, yang telah memberikan ijin untuk melaksanakan pemeriksaan dan mendapatkan sampel penelitian.

Dokter dan staf Puskesmas Pembina Kecamatan Jatinegara dan Matraman di Poli Gigi, khususnya Morita, drg; Yuliana, drg; Soeni, drg; Henny, drg; Irna Irawati, drg; Okke, drg. Staf laboratorium pemeriksaan darah dan urin terutama Bapak Sumarwan dan Ibu Mennaria P, Staf Poli Kesehatan Umum dan Rontgen Foto yang ikut prihatin terhadap sulitnya mendapatkan sampel dan berupaya membantu pengaturan penderita sebagai sampel penelitian.

Semua penderita yang bersedia bekerjasama demi keberhasilan saya dalam mendapatkan sampel untuk pelaksanaan penelitian.

Prof Dr Satyanegara, MD Direktur Rumah Sakit Pusat Pertamina (RSPP) Jakarta, atas ijin yang diberikan untuk menggunakan fasilitas serta melakukan pemrosesan jaringan pulpa gigi.

H Prabowo Soemarto, dr, Kepala Laboratorium Patologi Anatomi RSPP yang telah tulus memberikan ijin dan petunjuk beserta stafnya Sdri Kardini, Sdri Samsuwarti, BSc, Nursiah Tampubolon, dra , Sdr Purwadi atas kesediaannya sangat membantu dalam pemrosesan dan pewarnaan imunohistokimia yang memerlukan ketrampilan, ketelitian dan pengalaman.

Kepala Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Atmajaya Jakarta yang dengan senang hati membantu saya dengan memberikan kesempatan kepada saya menggunakan mikroskop.

C Murtono, dr, SpPA di tengah kesibukannya berupaya untuk membantu mengidentifikasi komponen imunopatologik yang sangat berarti untuk penyelesaian penelitian saya.

Staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yaitu Dr Santoso Cornain, dr, Sp PA dan Endang, dr, Sp PA yang telah mengidentifikasi dan memberikan masukan terhadap teknik pemeriksaan komponen imunopatologik yang sangat berarti dan Alex Tandian, dr, Sp PA yang membantu dalam proses pembuatan foto preparat.

Staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang secara kekeluargaan sangat membantu di akhir penulisan disertasi ini.

Sdr Abdul Kholik, staf laboratorium komputasi jurusan statistik fakultas MIPA ITS, yang dengan kesabarannya telah membantu dalam analisis data penelitian untuk disertasi ini dan menjelaskan hasil analisis data saya..

Dekan beserta staf dan sejawat di FKG Unair, khususnya laboratorium Konservasi Gigi atas segala bantuannya.

Sejawat di FKG UPDM(B) khususnya di laboratorium Konservasi Gigi atas segala dorongan semangat dan bantuannya.

Semua pihak yang berupaya memberikan bahan rujukan yang masih terbatas dan membantu dalam penelusuran kepustakaan untuk penulisan disertasi yaitu Dr Koosnadi Saputra, Ketua Lab. Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Akupuntur –

Puslitbang Pelayanan Kesehatan Depkes RI Surabaya. Prof Wisnujono Soewono, dr, SpM; Gatot Suhendro, dr, SpM; Dr Slamet Prijanto, dr, SpTHT; Dr Suprpto Maat, drs, Apt di Rumah Sakit Dr Soetomo. Dr Darminto, Ir dari ITS; Budiarto, dr dari Depkes Pusat; Dondin Sayuti, drh, PhD dan Erni, drh dari IPB Bogor. I Ketut Sudiana, Drs, MSi; Agus Darwanto, SPd, MKes dari FK Unair. Dr Tri Martiana, dr dari FKM Unair; Sudjarwo, Drs, Apt dari FF Unair; Suharsini, drg, SU dari FKG UI; Johanna M Kandouw, dr, Sp PA dari FK Unhas; Prof Dr H Moetmainah Prajitno, drg, SpKG; Dr Krisnowati, drg ; Dr Iwan Hernawan, drg, MS dan Retno Pudji Rahayu, drg, MKes dari FKG Unair; Charles Suryadi, dr dari Univ Atmajaya; Dr Djuanda Tandyo, dr, SpA dari UNS Solo; Dr Wurlina, drh, MS dari FKH Unair. Staf Internet GRAMIK, khususnya Indrayana, NS, dr, SpF; Sri Musta'ina, dra, MKes ; Atika, SSI; Sri Wahyuningsih dan Bayu Yulianti. Staf perpustakaan utara FK, FKG Unair, Staf perpustakaan FK dan FKG Universitas Indonesia dan staf perpustakaan Lembaga Eijkman, staf perpustakaan FKG Trisakti, staf perpustakaan FKG UPDM(B). Prof Loh Hong Sai atas kesediaannya berdiskusi dan memberi masukan tentang penggunaan laser dan membantu untuk mendapatkan rujukan di perpustakaan National University Singapura. Prof Prathip Phantumvanit dan Dr Sunsanee Rajchagool dari Universitas Chulalongkorn Bangkok atas upaya membantu saya mendapatkan bahan rujukan di awal penulisan proposal.

Prof Dr IGN Rai, drg; Jan Sudir Purba, dr, PhD; Inggrijani, dr, MM; Nieke A Karim, drg, MS; Magdalena S, drg, Sp Ortho; Aswita K, drg, MM; Arini, drg, MM; Ismaun, drg, MARS; Suryohadiprodjo, drg, MM; Tjokro Inghadiwidjojo, drg; Dr Paulus Januar, drg, MS atas segala petunjuk dan dorongan untuk segera

menyelesaikan disertasi dan keluarga Danuseputra, keluarga Mackmur, Hadi dan Shanty, keluarga Soehadi, atas segala bantuannya.

Ketua dan anggota Kelompok Studi Psikoneuroimunologi Fakultas Kedokteran Unair yang telah ikut membantu persiapan ujian Disertasi, berupa berbagai kegiatan Seminar ilmiah di Gramik FK Unair.

Rekan mahasiswa Program Studi Ilmu Kedokteran Pascasarjana Unair khususnya angkatan 1993-1994.

Ketua Yayasan Supersemar yang diwakili oleh bendaharawan yayasan supersemar Bapak Ali Afandi dan ketua dewan pengurus Yayasan Bakti Persatuan, Prof Dr Lukas Widiyanto atas bantuan penambahan dana untuk penyelesaian disertasi ini.

Yang tersayang ibunda Pranatyo Budihardjo, BA, Spd dan ibu Titi Sutanti yang dengan kasih sayang telah mendidik dan membesarkan saya, dengan ketulusan hati yang rela berkorban tenaga dan pikiran untuk mendampingi, mendidik dan merawat putra kami selama masa pendidikan S2 dan S3 dan selalu berdoa demi keberhasilan pendidikan saya.

Yang tercinta Edemarau Purba, SH, LLM dan ananda Gideon Giovanni atas segala pengorbanannya dan senantiasa memberi semangat bagi keberhasilan pendidikan saya.

Semua pihak yang ikut membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang tidak dapat saya sebutkan namanya satu-persatu dalam ucapan terimakasih ini.

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

## RINGKASAN

Sampai saat ini, kasus pulpitis akibat karies masih banyak ditemukan. Karies gigi merupakan kerusakan gigi yang bersifat progresif dan lokal bahkan apabila tidak dirawat akan menimbulkan pulpitis dan akhirnya menjadi nekrosis pulpa. Di bidang kedokteran gigi vitalitas jaringan pulpa perlu dipertahankan. Karies merupakan salah satu faktor yang membahayakan vitalitas jaringan pulpa sehingga perlu diupayakan tindakan mempertahankan vitalitas gigi yang terlanjur mengalami pulpitis. Sejak ditemukannya laser pada tahun 1960 telah terjadi perkembangan yang sangat pesat dalam penggunaannya di bidang kesehatan termasuk di bidang kedokteran gigi. Namun sejauh penggunaan laser tersebut masih banyak keraguan dan pertentangan pendapat. Di satu pihak laser dikatakan bersifat stimulasi untuk penyembuhan atau di lain pihak justru supresi bahkan merusak.

Laser singkatan dari *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Sinar laser mempunyai sifat monokromatis, koherensi dan kollimasi yang tinggi. Ada beberapa jenis laser menurut media aktif laser, tingkatan bahaya paparan terhadap jaringan, daya laser. Menurut dayanya laser ada 2 jenis yaitu laser daya rendah dan laser daya tinggi. Untuk biomodulasi penyembuhan umumnya digunakan laser daya rendah. Laser GaAlAs telah banyak digunakan untuk tindakan perawatan. Panjang gelombang laser ini yaitu 830 nm dengan daya 50 mW. Keunggulan laser ini dibandingkan dengan laser daya rendah lainnya yaitu bahaya terhadap mata lebih kecil, mudah digunakan, penetrasi ke dalam jaringan lebih besar. Mekanisme kerja

laser yaitu dengan eksitasi elektron yang cukup kuat sehingga terjadi pembalikan populasi elektron dan akibatnya terjadi emisi foton secara spontan.

Pada keadaan pulpitis, bakteri dan produk bakteri penyebab karies akan menimbulkan respons imun. Komponen respons imun jaringan pulpa yang terutama berperan adalah makrofag, limfosit T dan limfosit B. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan laser mempengaruhi respons imun. Perkembangan penelitian terakhir mengungkapkan bahwa laser menghasilkan *stress wave*. Juga dikatakan bahwa penyinaran laser pada energi tertentu dapat meningkatkan atau menurunkan jumlah sitokin. Akibat penyinaran laser pada komponen makrofag telah terbukti dapat meningkatkan jumlah interleukin-1.

Dalam rangka mencapai tujuan mengungkap pengaruh laser terhadap pulpitis maka digunakan suatu pendekatan patobiologis berkonsep *stress immunocompetent cell*. Melalui alur pikir ini, laser sebagai *stressor* akan menghasilkan *stress wave* akan menembus odontoblas pada tubuli dentin dan selanjutnya berkontak dengan makrofag atau *stressor* tersebut memberi paparan langsung terhadap makrofag di pulpa tanpa melalui odontoblas. Makrofag sebagai *stress cell* akan memberikan tanggapan dengan mengeluarkan IL-1. Interleukin ini selanjutnya akan mengaktivasi komponen respons imun melalui jalur *Thelper-1* dan *Thelper-2*.

Jenis penelitian ini *experimental randomized post control design*. Populasi adalah gigi penderita dengan kriteria umur 17-40 tahun, kesehatan umum baik. Dari penderita tersebut diambil 2 kelompok sampel gigi dengan kriteria umum gigi vital yang mengalami karies primer, merupakan gigi 13, 12, 11, 21, 22, 23, 45, 44, 43, 33, 34, 35 dengan indikasi pencabutan gigi untuk perawatan ortodontik atau

prostodontik. Kelompok pulpitis ireversibel yaitu gigi dengan karies profunda pada bidang oklusal atau labial yang pulpanya telah terbuka dan ada rasa sakit spontan serta pada Roentgen foto jaringan periapikal ada pelebaran periodontal membran. Pulpitis reversibel yaitu karies profunda pada bidang oklusal atau labial yang pulpanya tertutup selapis dentin tipis maksimal 1 mm setelah diekskavasi, pada Roentgen foto tampak jaringan periodontal normal. Jumlah sampel =10 untuk setiap kelompok. Penyinaran laser dengan variabel bebas 2 menit atau 5 menit. Sedangkan sebagai variabel tergantung digunakan komponen respons imun makrofag, limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup>, limfosit *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup>, IgG dan IgM dari pulpa hasil pencabutan gigi. Untuk menampilkan aktivasi komponen tersebut digunakan pewarnaan imunoperoksidase. Data yang diperoleh dari perhitungan sel pada setiap preparat hasil pewarnaan imunoperoksidase menggunakan mikroskop cahaya, kemudian diuji dengan analisis multivariat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan laser GaAlAs 5 menit memberikan efek biomodulasi pada kelompok pulpitis reversibel. Hal ini disebabkan karena penurunan makrofag yang diikuti dengan penurunan jumlah limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup>, *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup>, IgM. Namun ada peningkatan IgG sehingga meningkatkan peran opsonisasi.

## ABSTRACT

**Key words :** *Laser biomodulation, pulpitis irreversible, pulpitis reversible, low level laser*

Low level laser (LLL) was common for therapeutic means. There are various type of LLL, among other is GaAlAs (Gallium Aluminum Arsenicum) type. This type of LLL has the advantage in practice, because the portable form. This kind of laser instrument can be used to assist healing of certain level pulpitis. Unfortunately the utility was still in controversy of the result, such as biomodulation.

To know the biomodulation of LLL effect upon the immunological response in pulpitis, an experimental study had been intended by experimental post control design on both reversible and irreversible pulpitis by pathobiological paradigm and stress immunocompetent cell concept. The population consist of extracted human teeth derived from 17-40 year, male and female. The teeth were taken out from Orthodontics and Prosthodontics section patients at Puskesmas Kecamatan Jatinegara and Matraman, Jakarta Timur. To enable application of the laser instrument the selected teeth consist of 13, 12, 11, 21, 22, 23 and 45, 44, 43, 33, 34, 35. Those teeth had been lasered in 2 or 5 minutes length time. The samples were taken after 7 days from the starting time of application. From these samples variables on macrophage, IgG, IgM, lymphocyte Thelper CD4<sup>+</sup> and lymphocyte Tcytotoxic CD8<sup>+</sup> will be observed. The control samples were taken out from those pulpitis without laser application. All of sample were indicated for extraction teeth (Orthodontic, Prosthodontic criterion). The number of sample was 10 for each group.

From this study so far i.e. after analyzing the data by multivariate analysis ( $\alpha = 0.005$ ), it is known that 5 minutes application of GaAlAs in reversible group pulpitis was the only exert the biomodulation effect upon the immunological response. Both the humoral and the cellular immunity of reversible pulpitis was influenced by GaAlAs. That means somebody using GaAlAs laser as therapeutic treatment, have to concerned on the type of pulpitis as well as the time of application.



**DAFTAR ISI**

Sampul Depan .....	i
Sampul Dalam .....	ii
Prasyarat Gelar .....	iii
Persetujuan .....	iv
Penetapan Panitia .....	v
Ucapan Terima Kasih .....	vi
Ringkasan .....	xiv
Abstract .....	xvii
DAFTAR ISI .....	xviii
DAFTAR TABEL .....	xxi
DAFTAR GAMBAR .....	xxii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xxiv
DAFTAR ISTILAH .....	xxvi
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan umum .....	4
1.3.2 Tujuan khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat ilmiah .....	5
1.4.2 Manfaat praktis .....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Sinar Laser .....	6
2.1.1 Sifat sinar laser .....	6
2.1.2 Jenis laser .....	7

2.1.3	Mekanisme kerja laser .....	11
2.1.4	Interaksi laser dengan jaringan .....	13
2.2	Jaringan Keras Dentin .....	16
2.3	Jaringan Pulpa .....	18
2.3.1	Sistem sirkulasi .....	20
2.3.2	Morfologi ruang pulpa .....	23
2.3.3	Komponen jaringan pulpa .....	25
2.3.4	Fungsi pulpa .....	26
2.3.5	Klasifikasi kelainan jaringan pulpa .....	26
2.4	Respons Imun Pada Pulpa .....	28
2.4.1	Makrofag .....	30
2.4.2	Aktivasi sel <i>Th</i> .....	32
2.4.3	Aktivasi sel <i>Tc</i> .....	33
2.4.4	Aktivasi sel B .....	34
2.4.5	Antibodi .....	35
2.5	Perkembangan Aktivasi Sel <i>Th</i> .....	36
2.5.1	Aktivasi sel <i>Th</i> .....	36
2.5.2	Aktivasi sel <i>Th-1</i> .....	37
2.5.3	Aktivasi sel <i>Th-2</i> dan limfosit B .....	38
2.5.4	Aktivasi sel <i>Tc</i> .....	38
2.6	Hubungan Stres dengan Respons Imun .....	39
2.7	Dampak Penyinaran Laser Daya Rendah Pada Sistem Imun .....	45
3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....	49
3.1	Kerangka Konseptual .....	49
3.2	Hipotesis .....	50
4	METODE PENELITIAN .....	51
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	51
4.2	Pendekatan .....	52
4.3	Populasi, Sampel dan Unit Analisis .....	52
4.3.1	Populasi .....	52

4.3.2	Sampel .....	53
4.3.3	Unit analisis .....	54
4.4	Variabel Penelitian .....	54
4.4.1	Variabel bebas .....	54
4.4.2	Variabel tergantung .....	54
4.5	Definisi Operasional .....	55
4.6	Bahan dan Alat Pemeriksaan .....	56
4.6.1	Bahan untuk memproses jaringan pulpa .....	56
4.6.2	Alat untuk pemeriksaan .....	57
4.7	Tempat Penelitian .....	58
4.8	Tahapan Penelitian .....	58
4.8.1	Prosedur pengambilan jaringan pulpa meliputi .....	58
4.8.2	Pembuatan sediaan mikroskopik .....	60
4.8.3	Perhitungan jumlah setiap sel imun .....	61
4.8.4	Analisis data .....	63
4.8.5	Alur Penelitian .....	64
5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS .....	65
5.1	Hasil Uji Homogenitas Data .....	66
5.2	Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok Sampel .....	67
5.3	Uji Diskriminan Untuk Identifikasi Variabel Pembeda .....	72
5.4	Pembuatan Pola Patobiologis Respons Imun .....	73
6	PEMBAHASAN .....	75
7	KESIMPULAN DAN SARAN .....	83
7.1	Kesimpulan .....	83
7.2	Saran .....	83
	DAFTAR PUSTAKA .....	85
	LAMPIRAN .....	91

## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 :	Data rerata dan standar deviasi pengamat I (Peneliti) dan Pengamat II kelompok reversibel.....	66
Tabel 5.2 :	Data rerata dan standar deviasi pengamat I (Peneliti) dan Pengamat II kelompok ireversibel.....	66
Tabel 5.3 :	Rerata dan standar deviasi kelompok reversibel .....	67
Tabel 5.4 :	Rerata dan standar deviasi kelompok ireversibel .....	68
Tabel 5.5 :	Uji Manova pada kelompok pulpitis reversibel yang terpapar Laser 2 menit .....	70
Tabel 5.6 :	Uji Manova pada kelompok pulpitis reversibel yang terpapar Laser 5 menit .....	70
Tabel 5.7 :	Uji Manova pada kelompok pulpitis ireversibel yang terpapar Laser 2 menit .....	71
Tabel 5.8 :	Uji Manova pada kelompok pulpitis ireversibel yang terpapar Laser 5 menit .....	71
Tabel 5.9 :	Tabel variasi pembeda yang dominan .....	72
Tabel 5.10 :	Koefisien Fisher .....	72
Tabel 5.11 :	Harga kontribusi diskriminan setiap variabel .....	73

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	: Beda sinar laser dan sinar konvensional .....	7
Gambar 2.2	: Diagram energi laser .....	12
Gambar 2.3	: Absorpsi sinar laser oleh biomolekul .....	14
Gambar 2.4	: Peritubular dan interbulular dentin .....	17
Gambar 2.5	: Anatomi gigi .....	19
Gambar 2.6	: Sirkulasi darah pada jaringan pulpa gigi .....	22
Gambar 2.7	: Susunan odontoblas dalam ruang pulpa .....	23
Gambar 2.8	: Respons imun primer dan sekunder .....	29
Gambar 2.9	: Fagosit profesional .....	31
Gambar 2.10	: Makrofag sebagai <i>Antigen Presenting Cell</i> (APC) .....	31
Gambar 2.11	: Aktivasi sel <i>Th</i> .....	32
Gambar 2.12	: Aktivasi sel <i>Tc</i> .....	33
Gambar 2.13	: Jalur aktivasi sel B .....	34
Gambar 2.14	: Rumus bangun dasar imunoglobulin .....	35
Gambar 3.1	: Skema kerangka konseptual penelitian .....	49
Gambar 4.1	: Alat laser GaAlAs .....	57
Gambar 4.2	: Komponen respons imun IgG (pembesaran 1000 x) .....	62
Gambar 4.3	: Komponen respons imun limfosit <i>Thelper CD4<sup>+</sup></i> .....	62
Gambar 5.1	: Grafik rata-rata paparan laser 2 menit dan 5 menit pada pulpitis reversibel .....	68
Gambar 5.2	: Grafik rata-rata paparan laser 2 menit dan 5 menit pada pulpitis ireversibel .....	69
Gambar 5.3	: Pola patobiologis respons imun akibat laser 5 menit pada pulpitis reversibel .....	74

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Formulir Persetujuan Ikut dalam Penelitian.....	91
Lampiran 2	: Surat Persetujuan Puskesmas .....	92
Lampiran 3	: Surat Keterangan Kelaikan Etik .....	93
Lampiran 4	: Pewarnaan imunoperoksidase .....	94
Lampiran 5	: Data asli komponen imun .....	100
Lampiran 6	: Uji homogenitas faktor kendali .....	102
Lampiran 7	: Uji antar pengamat.....	112
Lampiran 8	: Uji IIDN .....	119
Lampiran 9	: Manova pada reversibel .....	123
Lampiran 10	: Manova pada ireversibel .....	126
Lampiran 11	: Uji Perbedaan antar kelompok .....	129
Lampiran 12	: Uji Diskriminan .....	137
Lampiran 13	: Pembuatan Pola .....	149

### DAFTAR SINGKATAN

<i>ACTH</i>	: <i>Adrenocorticotropin</i>
<i>APC</i>	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
<i>BCGF</i>	: <i>B-cell Growth Factor</i>
<i>BCDF</i>	: <i>B-cell Differentiation Factor</i>
<i>CRF</i>	: <i>Corticotropin Releasing Factor</i>
<i>DEJ</i>	: <i>Dentino Emamel Junction</i>
<i>DCJ</i>	: <i>Dentino Cemental Junction</i>
<i>Fab</i>	: <i>Fragment antigen binding</i>
<i>Fc</i>	: <i>Fragment crystalizable</i>
<i>GaAlAs</i>	: <i>Gallium Aluminum Arsenicum</i>
<i>HPA</i>	: <i>Hipothalamus-pituitary cortex adrenal</i>
<i>HSP</i>	: <i>Heat Shock Protein</i>
<i>HeNe</i>	: <i>Helium Neon</i>
<i>HLLT</i>	: <i>High Level Laser Therapy</i>
<i>IL</i>	: <i>interleukin</i>
<i>INF</i>	: <i>interferon</i>
<i>IgM</i>	: <i>Immunoglobulin M</i>
<i>IgG</i>	: <i>Immunoglobulin G</i>
<i>J</i>	: <i>Joule</i>
<i>Laser</i>	: <i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>

<i>LLLT</i>	: <i>Low Level Laser Therapy</i>
<i>MAF</i>	: <i>Macrophage Activating Factor</i>
<i>MHC</i>	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
<i>nm</i>	: <i>nanometer</i>
<i>Nd :YAG</i>	: <i>Neodymium Yttrium Aluminum Garnet</i>
<i>SD</i>	: <i>Standar Deviasi</i>
<i>Tc</i>	: <i>Tcytotoxic</i>
<i>TCR</i>	: <i>T cell receptor</i>
<i>Th</i>	: <i>Thelper</i>
<i>W</i>	: <i>Watt</i>



**DAFTAR ISTILAH**

- High Level Laser : Laser yang mempunyai daya tinggi dinyatakan dengan satuan Watt (Baxter, 1994).
- Low Level Laser : Laser yang mempunyai daya rendah dinyatakan dengan satuan mili Watt (Baxter, 1994).
- Patobiologi : adalah ilmu yang mempelajari perubahan biologik yang tidak lazim di dalam tubuh akibat interaksi individu dengan lingkungannya. Dalam penelitian perubahan disebabkan akibat perlakuan (Hill, 1980).
- Pemeriksaan morfofungsi : adalah pemeriksaan terhadap morfologi sel yang fungsional (Putra, 1990, Widodo, 1997).
- Pola perubahan respons imun : adalah pola yang terdiri dari komposisi perubahan variabel respons imun yang dominan dan saling melengkapi yang mencerminkan kontribusinya pada mekanisme proses biologik perubahan respons imun (Putra, 1990).

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Sampai saat ini, kasus pulpitis akibat karies masih banyak ditemukan. Karies gigi merupakan kerusakan gigi yang bersifat progresif dan lokal bahkan apabila tidak dirawat akan menimbulkan pulpitis dan akhirnya menjadi nekrosis pulpa. Di bidang klinik kedokteran gigi vitalitas jaringan pulpa perlu dipertahankan. Karies merupakan salah satu faktor yang membahayakan vitalitas jaringan pulpa sehingga perlu diupayakan tindakan mempertahankan vitalitas gigi yang terlanjur mengalami pulpitis. Di lain pihak, sejak ditemukannya laser pada tahun 1960 telah terjadi perkembangan yang sangat pesat dalam penggunaannya di bidang kesehatan termasuk di bidang kedokteran gigi. Namun sejauh ini penggunaan laser tersebut masih terus diperdebatkan. Salah satu penyebab adalah efek biomodulasi laser belum terungkap secara jelas terutama terhadap respons imun pada pulpitis. Efek biomodulasi laser dapat bersifat supresi (Bouma, 1996) atau stimulasi (Ozawa, 1997). Laser telah banyak digunakan, bukti perkembangan ini yaitu mulanya penelitian laser hanya pada tingkat jaringan (Braverman, 1989) dan tingkat sistem (Ohta, 1987) sampai akhirnya ke tingkat seluler (Mc.Auliffe, 1997).

Berbeda dengan dua upaya untuk mempertahankan vitalitas jaringan pulpa yang telah mengalami peradangan, yaitu cara *pulp capping* dan pulpotomi; maka penggunaan laser lebih mengutamakan modulasi respons imun. Perbedaan kedua tindakan tersebut, yaitu laser menggunakan daya fisika gelombang elektromagnetik

untuk biomodulasi respons imun. Sedangkan upaya *pulp capping* dan pulpotomi yang selama ini dilakukan mengandalkan pada daya kimia bahan tumpatan. Dengan berbagai jenis dan energi laser telah terbukti secara klinis antara lain : mempercepat proses penyembuhan luka akibat eksema, diabetes mellitus kronik, luka pada gingiva dan mengurangi rasa sakit pada jaringan periodontal. Pengungkapan pengaruh laser terhadap jaringan pulpa diperlukan karena saat ini terjadi peningkatan penggunaan laser yang efek biologiknya tanpa diketahui jelas. Dikhawatirkan penggunaan laser seperti sinar radiasi, yang ternyata secara luas digunakan baru kemudian diketahui merupakan immunosupresan (Suyono, 1992, Wilden, 1998).

Kemampuan produk bakteri atau bakteri menembus dentin dan merangsang inflamasi dalam pulpa merupakan penyebab utama kelainan pulpa. Seperti diketahui keadaan pulpitis dapat reversibel dan ireversibel. Pulpitis reversibel yaitu peradangan jaringan pulpa yang masih ringan sampai sedang sehingga bila rangsang dihilangkan, pulpa mampu mengembalikan ke keadaan normal (Grossman, 1988, Cohen, 1994). Dalam hal ini, vitalitas pulpa tergantung pada berbagai sel yang berada pada pulpa. Sel tersebut seperti halnya dengan sel tubuh lainnya akan bereaksi terhadap rangsang eksternal, termasuk sinar laser. Energi foton yang dikeluarkan oleh laser menghasilkan *stress wave* (Zubkova, 1995, Lee 1996, Lee, 1997). Beberapa penelitian mengungkapkan penggunaan laser berpengaruh terhadap berbagai sel imunokompeten antara lain makrofag, monosit, limfosit, sitokin. Seperti diketahui, energi laser yang sekarang digunakan dalam bidang kesehatan sangat luas, baik dalam intensitas, panjang gelombang maupun lamanya penyinaran. Bila energi penggunaan ditingkatkan maka *stress wave* yang dihasilkan juga akan meningkat

yang akibatnya akan menurunkan tingkat kemampuan sel mempertahankan kehidupannya (Mester, 1985, Pickering, 1992). Pada penggunaan laser daya rendah GaAlAs belum diketahui sejauh mana tingkat penyembuhan setelah penyinaran atau bahkan mungkin dapat memperburuk dibandingkan dengan keadaan semula. Hal ini ditunjukkan dengan adanya beberapa penelitian yaitu kegagalan laser memodulasi respons imun (Bouma, 1996), efek sitokin pada penyinaran laser (Funk, 1993). Untuk menentukan efek penyinaran laser tidak dapat dilihat secara klinis, tetapi perlu ditinjau perubahan respons sel imunokompeten melalui gambaran “psikoneuroimunologis”.

Untuk mengungkapkan perubahan kualitas sistem imun secara morfofungsi maka perlu diketahui pola respons imun pulpitis akibat laser. Untuk itu digunakan suatu paradigma patobiologis yang berkonsep pada *stress immunocompetent cell*, yang dapat menghubungkan sinar laser yang menghasilkan *stress wave* dengan keadaan sel imun yang terpapar (Kolesnikova, 1998). Laser dapat memodulasi sistem imun, terutama pada komponen sistem imun yaitu makrofag dan selanjutnya mempengaruhi limfosit sehingga dapat mengubah kualitas respons imun.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah paparan laser GaAlAs memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun pulpitis reversibel ?
2. Apakah paparan laser GaAlAs memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun pulpitis ireversibel ?
3. Apakah paparan laser GaAlAs memberikan variasi kualitas respons imun pulpitis ?

## **3. Tujuan Penelitian**

### **3.1 Tujuan umum**

Mengungkap biomodulasi laser GaAlAs terhadap respons imun pulpitis.

### **3.2 Tujuan khusus**

1. Membuktikan efek biomodulasi paparan laser GaAlAs 2 menit dan 5 menit pada respons imun pulpitis reversibel.
2. Membuktikan efek biomodulasi paparan laser GaAlAs 2 menit dan 5 menit pada respons imun pulpitis ireversibel.
3. Menetapkan kualitas variasi respons imun pada pulpitis yang terpapar laser GaAlAs.

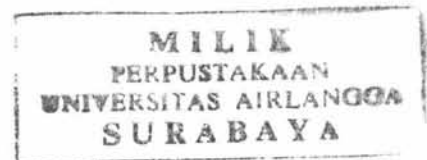
#### **4. Manfaat Penelitian**

##### **4.1 Manfaat ilmiah**

Mendapatkan konsep baru tentang mekanisme efek biomodulasi laser GaAlAs pada respons imun pulpitis.

##### **4.2 Manfaat praktis**

Temuan tersebut digunakan sebagai dasar penentuan dosis laser GaAlAs pada terapi pulpitis.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

Dalam bab ini akan diuraikan tentang laser, interaksi laser dengan jaringan, keadaan jaringan pulpa dan respons imun yang berkaitan.

#### 2.1 Sinar Laser

Laser singkatan dari *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Istilah *radiation* menunjukkan adanya transmisi energi bukan penggunaan bahan radioaktif. Sinar yang dipancarkan laser merupakan hasil suatu proses yang disebut *stimulated emission* (Kert, 1989). Laser berhasil dikonstruksi pertama kali oleh Maiman pada tahun 1960.

##### 2.1.1 Sifat sinar laser

Sinar laser bergerak dalam bentuk gelombang elektromagnetik. Panjang gelombang sinar menentukan warna cahaya dan diberi satuan nanometer (nm).

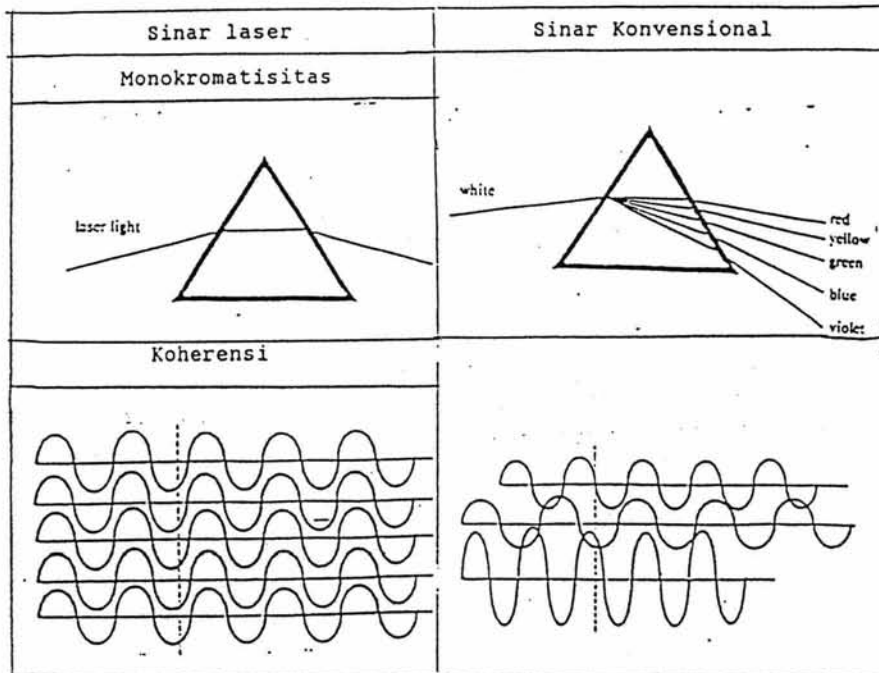
Perbedaannya terhadap sinar konvensional (seperti lampu listrik), dapat ditinjau dari hal :

##### a. Monokromatisitas

Dengan menggunakan sebuah prisma sinar putih dapat terurai menjadi spektrum warna dari merah sampai ungu (Karu, 1998). Sifat monokromatik ini menyebabkan laser terdiri dari satu panjang gelombang dan menghasilkan satu warna sinar (lihat gambar 2.1).

## b. Koherensi

Seluruh gelombang sinar laser berada dalam satu fase (gambar 2.1).



Gambar 2.1 : Beda sinar laser dan sinar konvensional (Kert, 1989)

## c. Arah sorot

Sinar laser mengarah hanya satu arah dan sinar yang keluar dari sorot laser mempunyai kollimasi yang tinggi.

## 2.1.2 Jenis laser

Dalam penggunaan laser di bidang kesehatan, ada beberapa klasifikasi laser yaitu berdasarkan :



a. Media aktif laser, maka laser dapat dibagi menjadi :

a) Laser padat

Sebagai contoh, laser dengan media aktif Neodymium-Yttrium Aluminum Garnet sehingga disebut Laser Nd: YAG. Mempunyai panjang gelombang bervariasi dari 900 nm, 1060 nm, 1350 nm. Laser ini digunakan dalam ophthalmologi, bronkoskopi, onkologi.

b) Laser cair

Contoh Laser (*Tunable*) dye, panjang gelombangnya bervariasi, digunakan pada dermatologi untuk lesi vaskular.

c) Laser gas

Banyak laser yang digunakan di bidang kesehatan termasuk jenis ini. Yang mempunyai panjang gelombang pendek 351 nm yaitu Laser Excimer untuk dermatologi, ophthalmologi. Laser He-Ne (632,8 nm) untuk terapi yang merangsang penyembuhan, mengurangi rasa sakit (Honmura, 1993, Giavelli, 1998). Laser CO<sub>2</sub> (10.600 nm) digunakan untuk bedah.

d) Laser semikonduktor

Sebagai contoh Laser GaAs (904 nm) dan GaAlAs (dengan panjang gelombang bervariasi tergantung jumlah Aluminium) untuk mempercepat penyembuhan.

b. Menurut Standar Internasional yang disusun berdasarkan bahaya paparan terhadap kulit dan mata :

a) Laser kelas 1

Meliputi laser yang mempunyai spektrum elektromagnetik yang tampak maupun tidak tampak. Tidak ada bahaya yang segera timbul bila terpapar langsung walaupun dalam periode cukup lama.

Contoh : Laser untuk *pointer*.

b) Laser kelas 2

Membatasi laser daya rendah dalam spektrum sinar yang tampak. Tidak akan berbahaya bila terpapar sesaat.

Contoh : Laser He-Ne (1 mW).

c) Laser kelas 3

Meliputi laser dengan sinar yang tampak dan tidak tampak, yang dianggap menimbulkan bahaya bila dipaparkan pada mata; tetapi bahaya terhadap kulit relatif kecil. Dayanya lebih dari 1 mW sampai 500 mW.

d) Laser kelas 4

Paparan jenis laser ini, menimbulkan bahaya yang lebih besar terhadap mata dan kulit. Yang termasuk kelompok ini yaitu laser daya tinggi seperti laser Nd:YAG, Laser CO<sub>2</sub> yang merupakan unit standar untuk aplikasi bedah.

c. Menurut daya laser

- a) Laser daya tinggi (*HLLT = High Level Laser Therapy*) terutama sebagai pemotong, pisau bedah. Kekuatan laser ini dinyatakan dalam Watt (W).

Contoh : Laser Luxar CO<sub>2</sub> (20 Watt).

- b) Laser daya rendah (*LLLT = Low Level Laser Therapy*) memberikan efek biomodulasi pada penyembuhan. Kekuatan laser ini dinyatakan dalam milli watt (mW). Contoh : Laser GaAlAs (50 mW).

Biasanya laser yang termasuk jenis ini mempunyai panjang gelombang 600 nm – 1.000 nm (Baxter, 1994).

d. Menurut efek dasar laser

Laser mempunyai 4 efek yaitu fotodisrupsi, fotoablasi, fototermal, fotokimia (Galletti, 1993, Brumer, 1995). Berdasarkan efek dasar ini, laser digunakan untuk insisi jaringan lunak, koagulasi hemostatis, mempercepat penyembuhan (Karu, 1987, Braverman, 1989, Pourreau, 1990, Skinner, 1996, Pinheiro, 1997, Saputra, 1997).

Sejauh penggunaan laser daya rendah untuk aplikasi pengobatan, tampak bahwa teknologi semikonduktor diode lebih dikembangkan bila dibandingkan dengan laser He-Ne. Yariv dkk dari California *Institute of Technology* pada tahun 1979 berhasil memproduksi Gallium-Arsenic laser diode yang pertama. Sedangkan laser

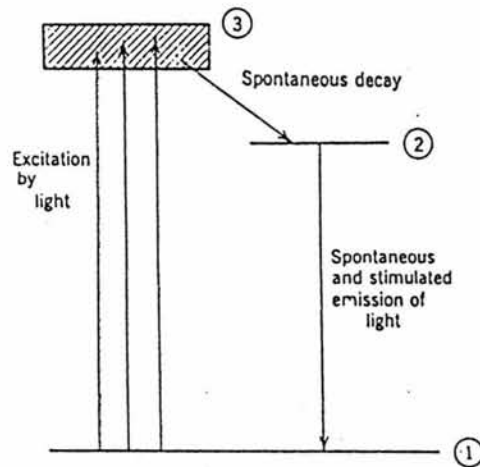
He-Ne lebih dahulu diperkenalkan yaitu pada tahun 1970. Laser pengobatan umumnya dioperasikan dengan daya di bawah 1 W.

Kekurangan laser He-Ne bila dibandingkan dengan laser diode (laser GaAlAs) yaitu :

1. Bahaya terhadap mata lebih besar karena laser He-Ne mempunyai kollimasi yang lebih tinggi.
2. Laser He-Ne lebih sulit penggunaannya dan cukup besar sehingga sulit dipindahkan, selain itu relatif mudah rusak.
3. Penetrasi laser GaAlAs lebih besar bila dibandingkan dengan laser He-Ne.
4. Pada kenyataannya banyak pemakai laser daya rendah yang memilih laser GaAlAs, kemungkinan selain lebih mudah penggunaannya, juga harganya lebih murah (Baxter, 1994).

### **2.1.3 Mekanisme kerja laser**

Aksi laser biasanya dapat dipahami dengan pembentukan atas timbulnya sinar yang disebut sinar laser. Pembentukan ini dapat terjadi jika ada suatu bahan yang tereksitasi sehingga mengalami amplifikasi. Proses pembentukan energi laser padat secara sederhana dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 : Diagram Energi Laser

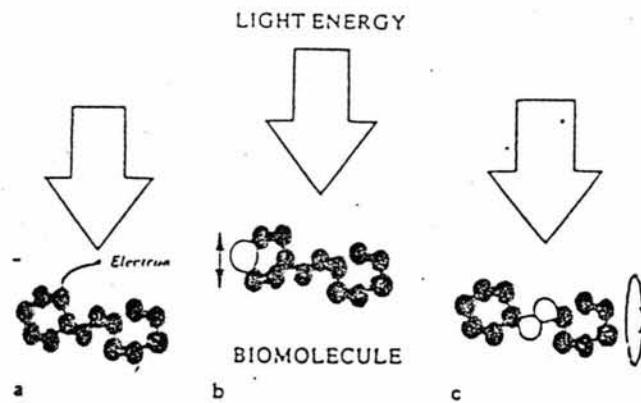
Kadaan awal sebelum adanya proses ditunjukkan pada angka 1 gambar 2.2. Eksitasi terjadi pada bahan padat oleh adanya frekuensi radiasi yang menghasilkan absorpsi ke dalam pita energi 3 yang lebar. Sebagian besar energi yang diabsorpsi digunakan untuk transmisi cepat tanpa radiasi menuju tingkat 2 yang merupakan tingkat antara. Selisih energi tingkat 3 dan 2 itu diberikan kepada kisi kristal berupa kalor. Emisi radiasi yang terjadi karena transisi spontan dari tingkat 2 ke tingkat dasar (1) ini biasanya berupa fluoresensi. Bila radiasi (cahaya) yang mengeksitasi itu cukup kuat, maka dapat terjadi lebih banyak atom di tingkat 2 daripada di tingkat dasar yaitu pembalikan populasi elektron (*population inversion*). Foton yang diemisikan secara

spontan dalam kristal akan menstimulasi radiasi tambahan, dan emisi terstimulasi seperti ini berpadu dengan emisi spontan. Hasil perpaduan semacam inilah yang menghasilkan sinar laser berintensitas tinggi dan monokromatik.

#### **2.1.4 Interaksi laser dengan jaringan**

Interaksi laser dengan jaringan perlu dipertimbangkan dengan serius karena komponen jaringan sangat kompleks. Energi laser yang jatuh pada jaringan hidup apakah berupa kultur jaringan maupun sebagai bagian makhluk hidup akan memberi reaksi biologis. Reaksi biologis yang terjadi tergantung dari jenis jaringan, keadaan jaringan dan besaran energi laser. Pada waktu foton sinar laser bertumbukan dengan jaringan akan timbul peristiwa yaitu absorpsi yang merupakan transformasi energi serta *scattering* yang merupakan hamburan sinar. Sinar yang diabsorpsi oleh jaringan mengalami interaksi dengan cara sebagai berikut :

1. Eksitasi ikatan elektron dalam biomolekul dan atau
2. Eksitasi berbagai atom ke tingkat osilasi yang lebih tinggi satu sama lain
3. Rotasi atau perputaran biomolekul secara keseluruhan atau bagian dari biomolekul oleh rangsangan elektromagnetik yang berasal dari pancaran sinar yang mendadak (Baxter, 1994).



Gambar 2.3 : Absorpsi sinar laser oleh biomolekul  
(Baxter, 1994)

- a. eksitasi ikatan elektron biomolekul
- b. eksitasi ke tingkat osilasi yang lebih tinggi
- c. rotasi biomolekul (*biomolecule*)

Melalui penelitian jaringan didapat dua macam efek laser terhadap sel. Pertama, efek positif atau stimulasi yang berarti terjadi respons peningkatan pertumbuhan atau fungsi sel. Kedua, efek negatif atau supresi yang berarti terjadi respons hambatan pertumbuhan sel. Pada rangsangan awal, umumnya energi laser meningkatkan pertumbuhan sel dan pada pertambahan energi justru menghambat pertumbuhan sel. Menurut Karu (1998), bila suatu sistem biologis yang kompleks seperti sel darah yang dipapar laser, maka efek penyinaran baik dari segi besarnya

reaksi atau keadaan responsnya sangat tergantung pada fisiologi jaringan yang terpapar. Tidak semua sel dalam jaringan atau kultur sel bereaksi dengan cara yang sama, tidak semua fungsi sel dapat teraktivasi. Dengan demikian, paparan sinar laser pada sel dapat berupa stimulasi atau penghambatan bahkan dapat menyebabkan destruksi sel. Namun, sampai saat ini penentuan *photoacceptor* belum dapat diidentifikasi.

Didapati 3 model interaksi penggunaan laser pada jaringan keras yaitu laser tidak diserap jaringan (model 1), laser diserap banyak oleh jaringan (model 2) dan laser diserap banyak oleh jaringan dan fluida medium (model 3).

Model 1 menggambarkan jaringan keras dan fluida tidak mengabsorpsi energi laser, dan energi dipindahkan secara langsung pada jaringan sekitarnya.

Pada model 2 terjadi serangkaian proses interaksi yaitu dimulai dengan penetrasi sinar laser dan energi ke dalam lapisan pertama dentin, diikuti dengan timbulnya panas dan ekspansi sehingga lapisan dentin pertama mengalami porositas tinggi yang mengakibatkan penetrasi air di dalam lapisan tersebut sehingga dikatakan lapisan dentin pertama ini mengalami karbonisasi. Dengan adanya temperatur yang sangat tinggi dengan konduktivitas termal  $k = 9,34 \times 10^3 \text{ W/cm}^\circ \text{ C}$  maka terjadi penguapan air dalam dentin yang terkarbonisasi. Tekanan uap air yang tinggi ini mengakibatkan terjadinya ledakan-ledakan lembut dalam lapisan yang terkarbonisasi, yang kemudian terpecah-pecah dan terlepas sehingga lapisan terkarbonisasinya habis. Pada akhir proses ini akan dihasilkan permukaan dentin yang belum terkena laser, kemudian prosesnya berulang. Model 2 ini terjadi pada saat melakukan preparasi



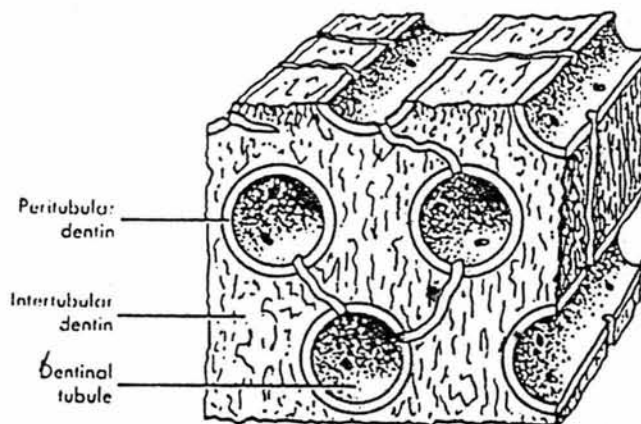
email atau dentin gigi untuk membuang jaringan karies dengan menggunakan laser daya tinggi.

Pada penelitian ini, interaksi laser GaAlAs terhadap jaringan pulpa gigi dan jaringan dentin mengikuti model 1. Dalam hal ini sinar laser yang dijatuhkan pada dentin akan sedikit atau bahkan tidak diabsorpsi secara bermakna oleh dentin sebagai jaringan keras, tetapi langsung diteruskan ke jaringan sekitarnya yaitu jaringan lunak dalam tubuli dentin dan ruang pulpa gigi.

## 2.2. Jaringan Keras Dentin

Dentin yang telah terbentuk sempurna kurang lebih terdiri dari 65% bahan anorganik, yang hampir seluruhnya dalam bentuk kristal hidroksiapatit. Kolagen menempati 20% jumlah keseluruhan dentin. Sitrat, kondroitin sulfat, laktat, lemak, protein lain yang tidak termasuk kolagen menempati kurang lebih 2%. Sedangkan air menempati 13% dari berat keseluruhan dentin. Bila ditinjau dari segi volume dentin, maka 45% terdiri dari bahan anorganik, molekul organik menempati 33% dan air sebanyak 22%. Pada dentin gigi manusia, 20% sampai 30% dari volume dentin terdiri dari tubuli dentin. Di dalam tubuli ini terdapat odontoblas. Proses mineralisasi dentin dimulai dengan akumulasi kristal kalsium fosfat pada predentin. Tubuli dentin terbentuk mengelilingi proses odontoblas, sehingga mengisi keseluruhan lebar dentin secara transversal dari *DEJ (Dentino-enamel junction)* atau *DCJ (Dentino Cemental Junction)* sampai ke pulpa. Tubuli dentin bentuknya semakin melebar bila jaraknya mendekati atap pulpa. Pada jarak 1 mm dari atap pulpa maka rerata jumlah tubuli

dentin sama dengan  $38.000/\text{mm}^2$  dengan rerata besarnya diameter setiap tubulus yaitu  $1,6 \mu\text{m}$ . Pembatas yang mengelilingi bagian luar tubuli disebut peritubular dentin, sedangkan pemisah antara satu tubulus dengan tubulus lainnya disebut intertubular dentin (gambar 2.4).



Gambar 2.4 : Diagram menggambarkan peritubular dan intertubular dentin (Cohen, 1994)

Matrik peritubular dentin berbeda dari intertubular dentin yang secara relatif mempunyai fibril kolagen lebih sedikit dan proteoglikan sulfat yang lebih banyak. Intertubular dentin berada diantara lingkaran peritubular dentin, terdiri dari fibril kolagen dengan diameter 500 sampai  $1000 \text{ \AA}$ .

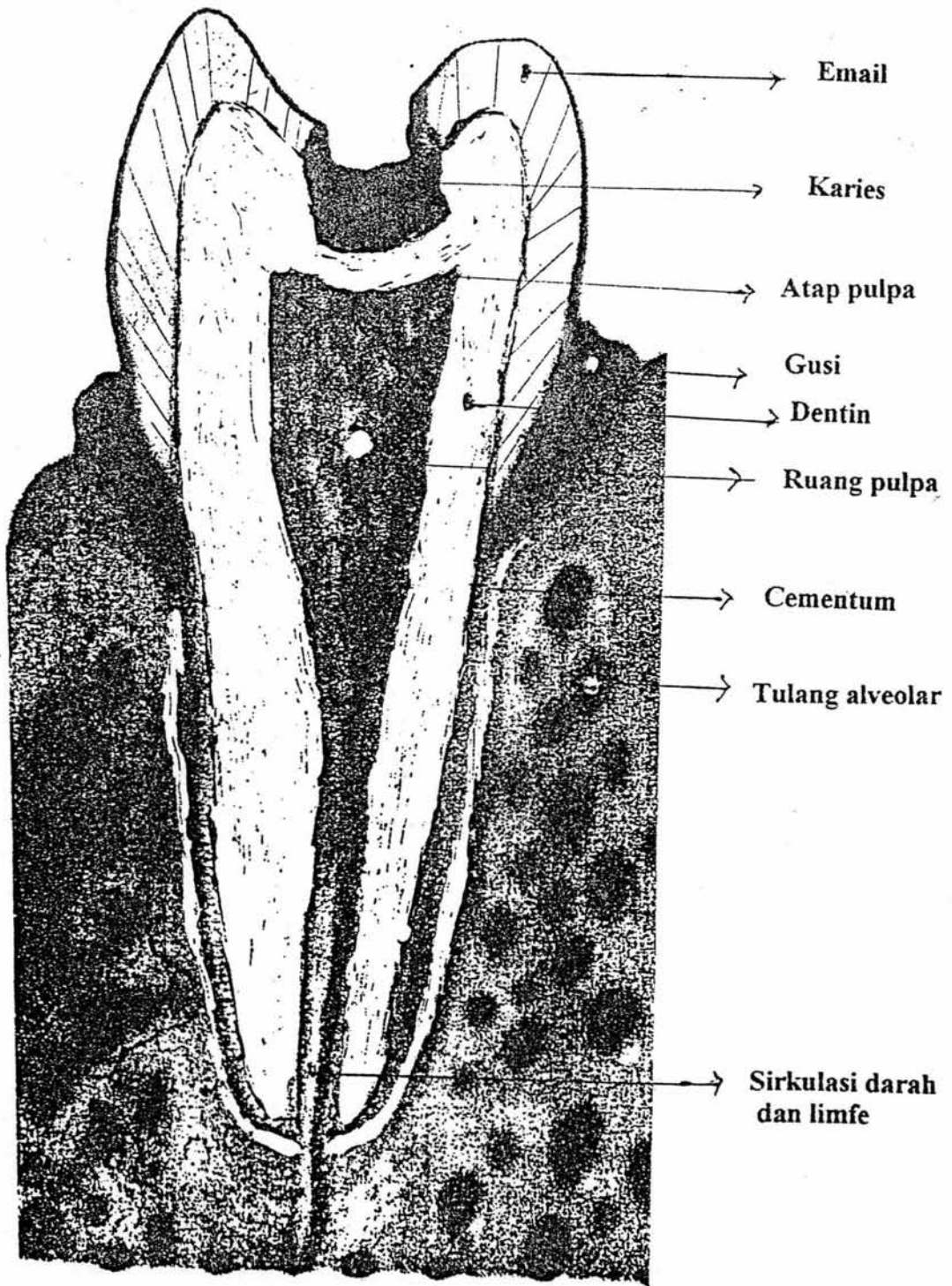
Telah disebutkan bahwa dentin juga terdiri dari air. Cairan bebas menempati kurang lebih 22% volume dentin. Cairan ini dapat keluar diantara odontoblas ke dalam tubulus dentin dan bahkan keluar ke email. Produk bakteri dapat masuk ke dalam cairan dentin sebagai akibat karies. Reaksi inflamasi telah terjadi di dalam pulpa jauh sebelum karies menembus jaringan pulpa. Hal ini menunjukkan bahwa produk bakteri mencapai pulpa melalui tubuli dentin.

Pada gigi yang pulpanya telah diambil, maka bakteri akan masuk ke dalam ruang pulpa dalam waktu yang relatif singkat. Hal ini kemungkinan ada kaitannya dengan pertahanan dari cairan dentin dan prosesus odontoblas dalam tubuli gigi yang masih vital (Brannstrom, 1981).

### **2.3 Jaringan Pulpa**

Jaringan pulpa terdiri dari stroma jaringan ikat sangat vaskular, berada di dalam rongga yang dikelilingi oleh dentin (gambar 2.5). Ukuran ruang pulpa pada gigi orang yang usianya muda lebih besar bila dibandingkan pada usia yang lebih lanjut.





Gambar 2.5 : Anatomi gigi

### 2.3.1 Sistem sirkulasi

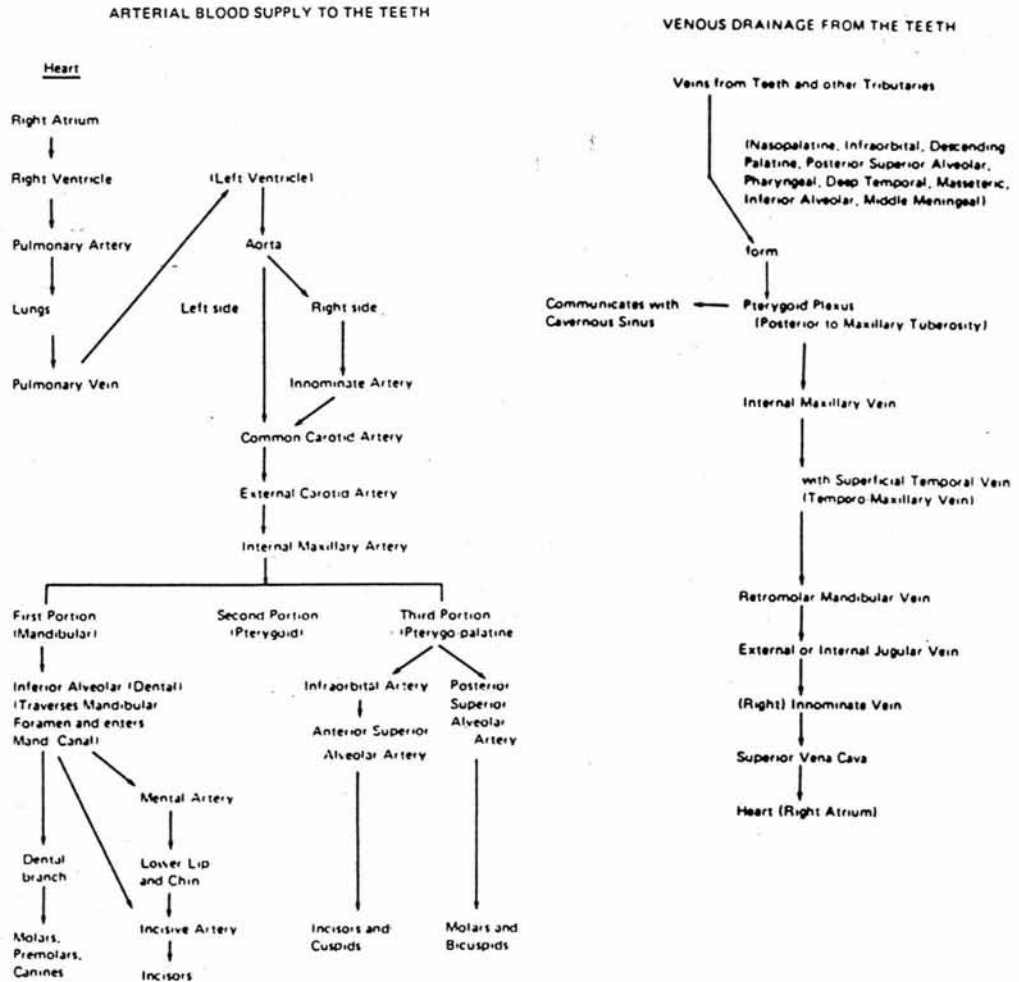
#### a. Sistem sirkulasi darah

Sistem sirkulasi darah di dalam pulpa merupakan mikrosirkulasi yang berfungsi untuk membawa nutrisi dan oksigen ke jaringan pulpa dan membuang produk sisa metabolisme dari jaringan. Jaringan pulpa mendapat aliran darah melalui foramen apikal yang terdapat di bagian ujung akar. Mikrosirkulasi jaringan pulpa terdiri dari pembuluh darah arteriol yang masuk foramen apikal bersama-sama serabut syaraf sensorik dan simpatis. Setelah pembuluh darah memasuki ruang pulpa, dinding pembuluh darah secara fisiologik dapat memperlambat aliran darah, sehingga dapat memiliki kesempatan yang leluasa untuk membagikan nutrisi dan pertukaran metabolisme. Sistem sirkulasi darah di dalam pulpa terdiri dari banyak pembuluh darah kecil yang berdiameter 100  $\mu\text{m}$  untuk arteriol dan 200  $\mu\text{m}$  untuk venule. Susunan kapiler di bagian mahkota berbeda dengan di bagian akar. Kapiler di bagian mahkota lebih padat daripada di bagian akar, dan lebih banyak terdapat di bagian sub odontoblas. Sedangkan di bagian sentral terdapat pembuluh darah yang lebih besar. Sistem sirkulasi di dalam jaringan pulpa pertama-tama berasal dari vena kava darah mengalir ke atrium kanan, kemudian darah dipompakan ke ventrikel kanan, dan melalui arteri pulmonalis menuju ke paru-paru. Di dalam paru-paru darah menerima

oksigen, kemudian melalui vena pulmonary darah menuju jantung. Dari jantung menuju ke atrium kiri dan dipompakan melalui ventrikel kiri menuju aorta. Dari aorta ini darah dibagi-bagikan ke pembuluh-pembuluh darah kecil atau arteriol. Demikian seterusnya arteri mensuplai pulpa gigi, dimana pertama-tama dari alveolar posterior superior, infra orbita, dan alveolar inferior dari arteri maksilaris interna. Aliran darah akan kembali ke jantung melalui pembuluh darah vena. Pembuluh darah vena pada pulpa bersama-sama dengan vena-vena tubularis, dari pleksus pterigoid darah mengalir ke vena internal maksilaris yang terus ke jantung (gambar 2.6).

**b. Sirkulasi limfe**

Di dalam jaringan pulpa juga terdapat sistem sirkulasi limfe. Cairan limfe dialirkan melalui pembuluh limfe, yang mempunyai jumlah cairan yang sama dengan pembuluh darah. Pembuluh limfe mempunyai dinding yang tipis, dengan bentuk lumen yang tidak teratur, dan pada umumnya pembuluh limfe berada dekat dengan daerah sub odontoblas. Aliran limfe ini berfungsi sebagai pertahanan tubuh terhadap rangsangan dari luar atau antigen.



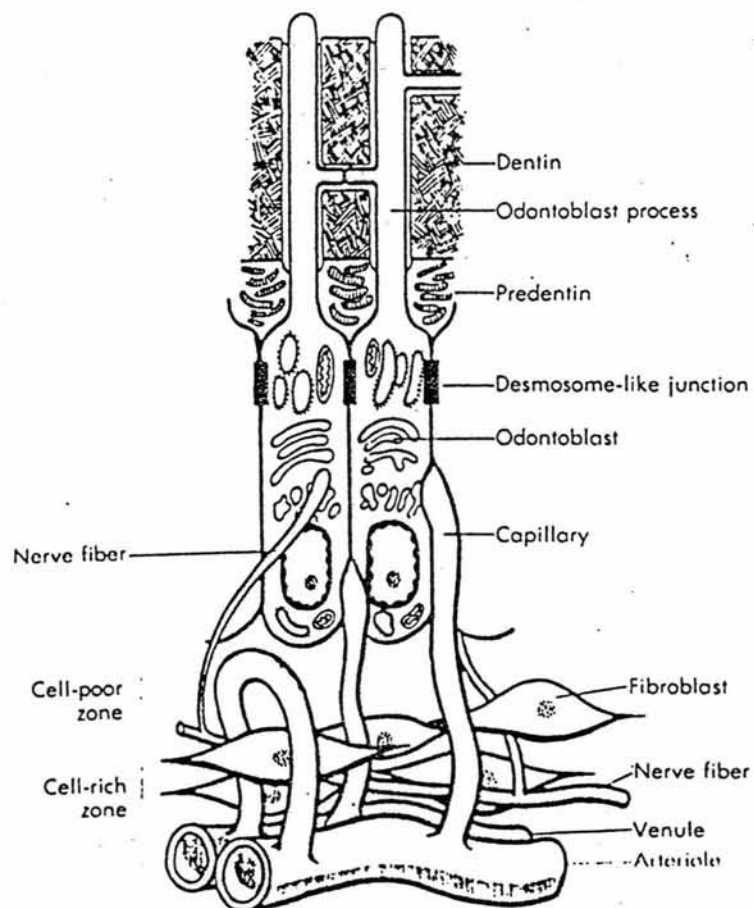
Aliran darah arteriол menuju ke gigi

Aliran darah vena keluar dari gigi menuju ke jantung

Gambar 2.6 : Sirkulasi darah pada jaringan pulpa gigi (Cohen, 1994).

### 2.3.2 Morfologi Ruang Pulpa

Morfologi ruang pulpa terbagi menjadi 3 bagian yaitu lapisan odontoblas, daerah yang banyak mengandung sel dan daerah yang sedikit mengandung sel, seperti terlihat pada gambar 2.7 (Rensburg, 1995).



Gambar 2.7 : Susunan odontoblas dalam ruang pulpa (Cohen, 1994).



**a. Lapisan Odontoblas**

Lapisan terluar pada pulpa adalah lapisan odontoblas. Lapisan ini berdekatan dengan predentin. Prosesus odontoblas terletak di dalam tubuli dentin, yang terutama tersusun dari odontoblas. Kapiler dan serat syaraf dapat ditemukan diantara odontoblas. Prosesus odontoblas bervariasi tingginya. Bentuk odontoblas lonjong di daerah mahkota gigi, semakin mendekati foramen apikal berbentuk pipih. Diantara prosesus odontoblas yang saling berdekatan terdapat hubungan yang spesifik. *Spot desmosome (macula adherens)* berada pada bagian apikal sel odontoblas akan menghubungkan satu odontoblas dengan lainnya dengan ikatan mekanis. Banyak *gap junction* memberikan jalur bagi eksitasi elektrik yang dapat menembus diantara odontoblas. *Gap junction* dan desmosome juga menghubungkan odontoblas dengan prosesus fibroblas pada daerah sub odontoblastik. *Tight junction (zonula occludens)* terutama pada bagian apikal odontoblas yang menentukan permeabilitas lapisan odontoblas.

**b. Daerah yang sedikit mengandung sel**

Daerah ini terletak berdekatan dengan lapisan odontoblas di bagian mahkota pulpa dengan 40  $\mu\text{m}$  daerah yang bebas dari sel. Daerah ini dilalui oleh kapiler darah, serabut syaraf yang tidak bermyelin dan prosesus fibroblas.

**c. Daerah yang banyak mengandung sel**

Daerah ini terletak pada daerah sub odontoblastik yang banyak mengandung fibroblas dan kemungkinan sel imunokompeten.

### **2.3.3 Komponen Jaringan Pulpa**

Bahan dan sel yang menempati ruang pulpa terdiri dari:

**a. Odontoblas**

Selama dentinogenesis odontoblas membentuk tubulus dentin dan keberadaannya di dalam tubuli diperlukan untuk mempertahankan kehidupan jaringan.

**b. Fibroblas**

Sel ini menghasilkan serat kolagen pulpa fibroblas terutama menempati daerah yang banyak mengandung sel.

**c. Makrofag**

Makrofag jaringan atau histiosit merupakan monosit yang berada di dalam pembuluh darah, masuk ke dalam jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Sel ini aktif dalam endositosis dan fagositosis. Makrofag juga menghasilkan bermacam-macam bahan termasuk interleukin-1 dan sitokin lainnya.

**d. Sel dendrit**

Sel ini terdistribusi dalam jaringan ikat termasuk jaringan pulpa. Mempunyai daya fagositik yang lebih lemah dibandingkan sel lain.

#### 2.3.4 Fungsi pulpa

1. Fungsi formatif yaitu membentuk dentin
2. Fungsi nutritif memberikan nutrisi dentin yang dilakukan oleh sel odontoblas. Bila dibandingkan dengan jaringan lain di dalam tubuh, tingkat konsumsi oksigen pulpa lebih rendah karena komposisi seluler pulpa relatif lebih sedikit. Beberapa bahan seperti kalsium hidroksida, amalgam dapat menghambat konsumsi oksigen (Cohen, 1994)
3. Fungsi sensori. Pulpa mengandung serabut saraf sensoris yang tidak hanya masuk ke dentin tetapi juga mengatur aliran darah yang melalui kapiler di dalam pulpa
4. Fungsi pertahanan. Pulpa mengandung sel yang diperlukan untuk pertahanan terhadap jejas yang masuk melalui tubuli dentin.

#### 2.3.5 Klasifikasi kelainan jaringan pulpa

- a. Menurut Smulson (1984), kelainan jaringan pulpa dapat dibagi menjadi :
  1. Pulpitis reversibel
  2. Pulpitis ireversibel
  3. Pulpa nonvital, eksudatif
  4. Pulpa nonvital, dehidratif
- b. Menurut Grossman, 1988.

Kelainan pulpa dibagi menjadi :

1. Pulpitide (inflamasi)

- a) Reversibel
  - 1) Simptomatik (akut)
  - 2) Asimptomatik (kronis)
- b) Ireversibel
  - 1) Akut
    - (a) Respons abnormal terhadap rangsang dingin
    - (b) Respons abnormal terhadap rangsang panas
  - 2) Kronik
    - (a) Asimptomatik, pulpa terbuka
    - (b) Pulpitis hiperplastik
    - (c) Resorpsi interna
- 2. Degenerasi pulpa
  - a) Kalsifik (didiagnosis secara radiografik)
  - b) Perubahan lain (didiagnosis secara histopatologik)
- 3. Nekrosis
- c. Menurut Harty (1990)

Kelainan pulpa dapat dibagi menjadi :

  - 1. pulpitis reversibel
  - 2. pulpitis ireversibel
  - 3. nekrosis pulpa

Penentuan keadaan pulpa dalam praktek klinik ditentukan dengan pemeriksaan subyektif dan obyektif.

## 2.4 Respons Imun pada Pulpa

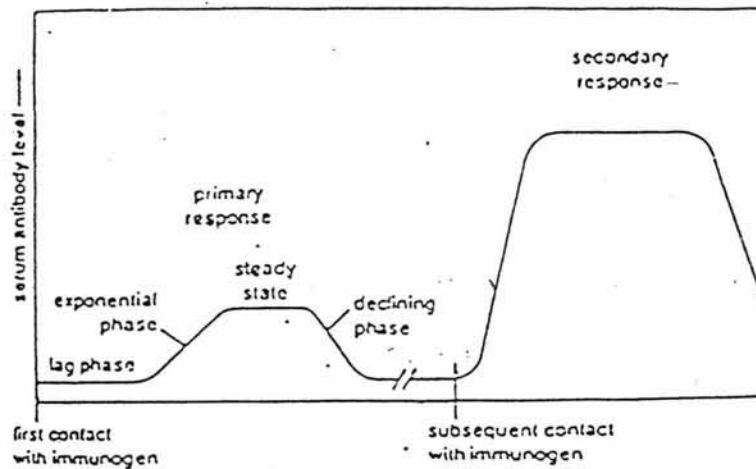
Pulpitis merupakan radang atau inflamasi jaringan pulpa. Penyebab pulpitis dapat berupa jejas mekanik, kimiawi, mikroorganisme. Respons imun dapat timbul bila jejas berupa imunogen masuk ke dalam tubuh.

Pulpitis sering diakibatkan oleh karies, yang disebabkan oleh beberapa macam bakteri, terutama *Streptococcus mutans*. Penelitian yang mengaitkan penetrasi bakteri dan inflamasi pulpa menyatakan bahwa bila penetrasi mencapai 1,1 mm belum menimbulkan perubahan inflamasi yang bermakna, sedangkan penetrasi yang mencapai 0,5 mm di atas atap pulpa, menimbulkan keadaan ireversibel (Seltzer, 1988, Hahn, 1992).

Pada pulpitis reversibel, peradangan pulpa masih ringan sampai sedang sehingga respon imun mampu mengatasi dan keadaan pulpa kembali ke normal bila jejas telah dihilangkan (Smulson, 1984, Grossman, 1988).

Ada dua bentuk ketahanan tubuh, yaitu ketahanan tubuh bawaan (*innate immunity*) dan ketahanan tubuh adaptif (*acquired immunity*). Perbedaan prinsip kedua sistem imun tersebut spesifik dan memori imunologik serta amplifikasi (Abbas, 1994).

Respons imun juga terbagi dalam beberapa fase. Masa tenang atau masa laten adalah waktu antara kontak dengan imunogen dan awal ditemukannya antibodi dalam sirkulasi, yaitu pada manusia memerlukan waktu sekitar satu minggu. Dalam periode ini terjadi aktivitas limfosit T dan limfosit B, disebut *Lag phase*, digambarkan sebagai garis lurus pada gambar 2.8 (Sigal, 1994).



Gambar 2.8 : Respons imun primer dan sekunder (Stites, 1997).

Antibodi dalam sirkulasi kemudian cepat bertambah jumlahnya. Periode ini disebut fase eksponensial yang digambarkan dengan garis menanjak. Setelah beberapa saat jumlah antibodi menjadi konstan. Hal ini disebabkan adanya keseimbangan sintesis dan degradasi antibodi. Fase ini digambarkan sebagai garis lurus, disebut *steady state phase*.

*Declining phase* terjadi karena degradasi antibodi sedemikian tinggi, sehingga melebihi sintesis antibodi menurun. Keadaan ini merangsang pengendalian respons imun, sehingga sintesis antibodi bertambah. Fase ini disebut *declining phase* yang pada gambar ditunjukkan sebagai garis menurun.

Bila ada imunogen yang sama masuk lagi setelah respons imun primer, maka akan terjadi respons imun sekunder. Pada respons imun sekunder, fase laten lebih pendek, disebabkan telah terbentuk limfosit memori yang mengenal imunogen tersebut. Dalam fase eksponensial respons imun sekunder, jumlah antibodi lebih

banyak. Perpendekan fase laten dan perpanjangan fase *steady state* pada respons imun sekunder merupakan bukti adanya amplifikasi pada respons imun.

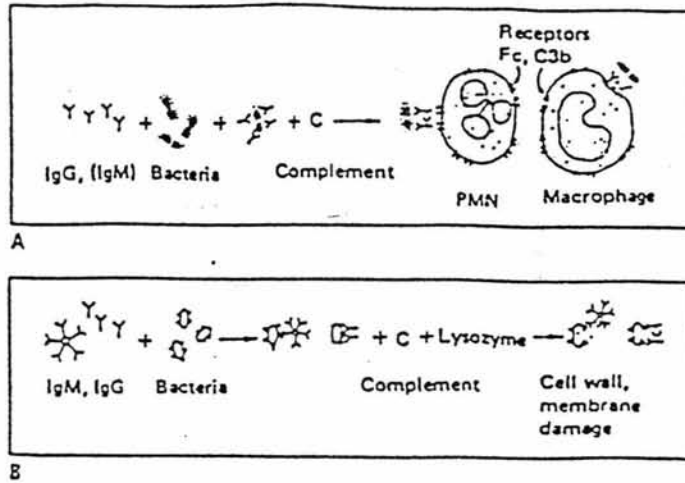
Respons imun terutama tergantung pada tiga tipe sel, yaitu makrofag, sel T dan sel B (Hokama, 1982, Bergenholtz, 1990, Stites, 1991, Cohen, 1994). Ketiga sel tersebut saling berinteraksi satu sama lain, baik secara langsung maupun melalui interleukin. Selain itu, juga berkaitan dengan sistem inflamasi misalnya dengan sistem komplemen.

#### 2.4.1 Makrofag

Menurut fungsinya, makrofag dapat dibagi menjadi 2 golongan, pertama sebagai fagosit profesional dan kedua sebagai *antibody presenting cell (APC)*.

##### a. Fagosit profesional

Monosit dan makrofag mengandung aparat Golgi yang kompleks dan lisosom yang diperlukan untuk pemusnahan secara intraseluler. Perlahapan dan perlekatan oleh monosit dan makrofag dipermudah melalui reseptor permukaan untuk fraksi Fc dari Ig G dan komplemen seperti C<sub>3b</sub> pada permukaan sel. Monosit dan makrofag dapat diaktifkan oleh *macrophage activating factor (MAF)* yang dilepas oleh sel T yang tersensitisasi. Selain itu, monosit dan makrofag dapat melepaskan bahan-bahan seperti komplemen (gambar 2.9).

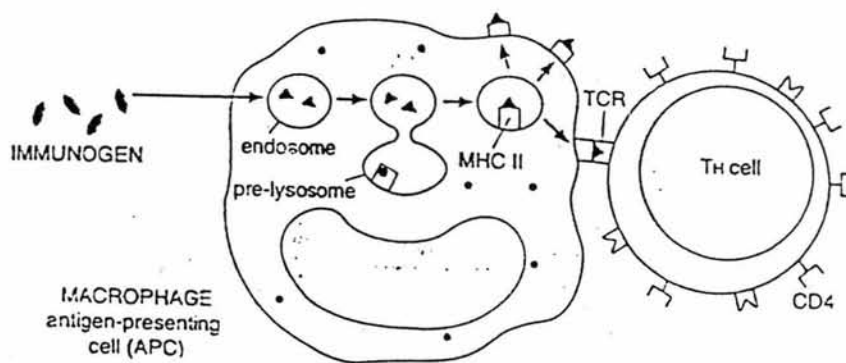


Gambar 2.9 : Fagosit profesional

Peningkatan fagositosis akibat opsonisasi lisis kuman dengan bantuan komplemen dan lisosom (Hill, 1980).

b. APC

Sebagian besar imunogen harus diproses dahulu oleh APC sebelum dapat dikenal oleh limfosit. Keadaan tersebut harus dicapai karena sel T sebagai pengatur penting respons imun memerlukan pengenalan terhadap imunogen dalam bentuk kompleks *MHC-antigen* (gambar 2.10).

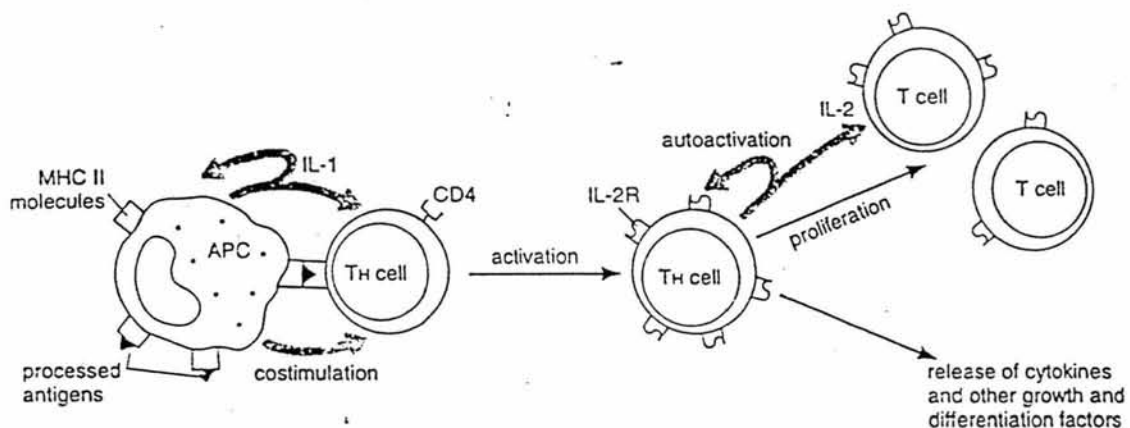


Gambar 2.10 : Makrofag sebagai *antigen presenting cell* (APC) (Stites, 1997)



### 2.4.2 Aktivasi sel *Th*

Sel *Th* (*Helper*) memegang peranan utama untuk mengaktivasi sel efektor yaitu sel *T<sub>C</sub>* (*Cytotoxic*) dan sel B yang akan menghasilkan antibodi. Aktivitas sel *Th* telah dimulai sejak awal jalur respons imun (gambar 2.11).



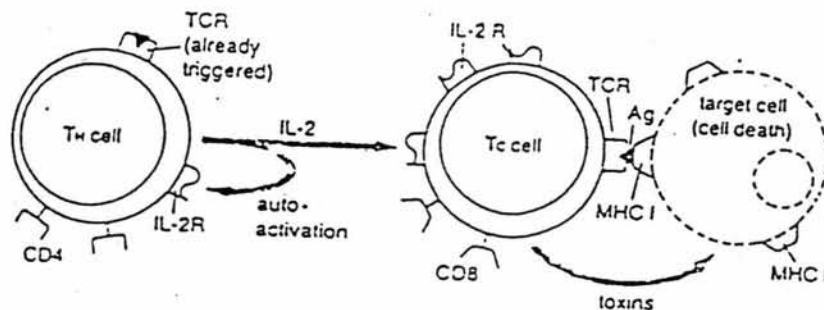
Gambar 2.11 : Aktivasi Sel *Th* (Stites, 1997)

Aktivitas ini memerlukan minimal dua faktor. Pertama, pengikatan *TCR* (reseptor sel T untuk antigen) dengan kompleks *antigen MHC* kelas II pada *APC*. Kedua, adanya interleukin-1 (*IL-1*), suatu protein terlarut yang dihasilkan oleh *APC*. Makrofag menghasilkan *IL-1* lebih banyak bila dibandingkan dengan sel B, oleh karena itu mampu mengaktivasi sel T-perawan (*Virgin T-cell*). Kedua faktor tersebut juga merangsang timbulnya reseptor untuk limfokin lain yaitu untuk *IL-2*. Juga merangsang produksi faktor pertumbuhan dan diferensiasi sel (sitokin) yang penting

untuk merangsang sel B dan mengaktivasi makrofag. Dengan adanya IL-2 ini maka respons yang telah dimulai oleh kontak sel *Th* dan *APC* dapat ditingkatkan.

### 2.4.3 Aktivasi sel $T_C$

Sel  $T_C$  (*Cytotoxic*) dirangsang oleh sel *Th*. Sel  $T_C$  dapat dibedakan dengan sel *Th* dengan adanya CD8 untuk sel  $T_C$  dan CD4 untuk sel *Th*. Molekul protein CD4 pada sel *Th* berkaitan dengan *MHC* kelas II dan CD8 pada sel  $T_C$  dengan *MHC* kelas I pada *APC*. Sel  $T_C$  juga memerlukan dua faktor untuk aktivasinya. Pertama, adanya interaksi reseptor antigen sel T dengan suatu kompleks epitop antigen dengan *MHC* kelas I pada sel sasaran. Kedua, IL-2 yang dihasilkan oleh sel *Th* yang teraktivasi. Selanjutnya, sel  $T_C$  yang aktif akan melepaskan sitokin untuk memusnahkan sel sasaran (Gambar 2.12).

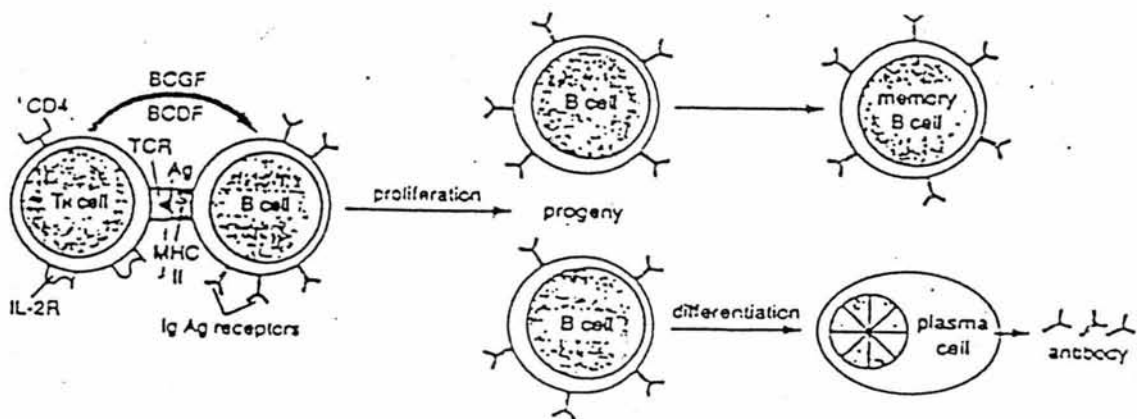


Gambar 2.12 : Aktivasi sel  $T_C$  (Stites, 1997)

#### 2.4.4 Aktivasi sel B

Produksi antibodi memerlukan aktivasi limfosit B dan diferensiasi menjadi sel plasma yang dapat menghasilkan antibodi. Untuk aktivasi dan diferensiasi sel B memerlukan tiga faktor. Faktor pertama, diberikan oleh adanya imunogen. Faktor kedua dan ketiga oleh sel *Th* dengan urutan kejadian sebagai berikut.

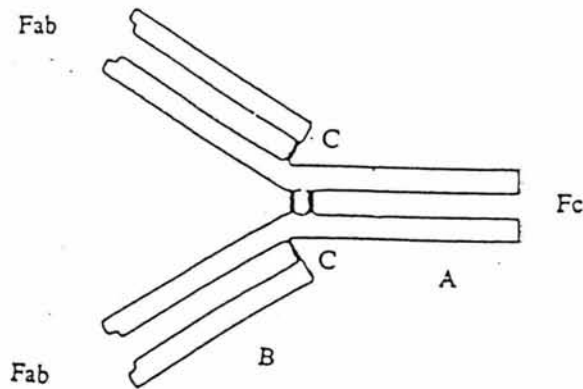
Pada saat sel *Th* teraktivasi, maka sel B diaktivasi oleh imunogen melalui reseptor antigen, yang nantinya merupakan ikatan pada membran setelah antibodi disekresikan. Ikatan antigen diikuti dengan endositosis kompleks antigen reseptor, yang dapat mengaktivasi sel B. Tetapi faktor ini belum memadai sehingga memerlukan faktor dari *Th*. Mulai tampak jelas keterkaitan sel T dan sel B dalam suatu respons imun. Sel *Th* yang telah teraktivasi akan mengeluarkan limfokin (*BCGF dan BCDF*) sebagai dua faktor yang mengaktivasi sel B. *BCGF* (*B-cell growth factor*) bertanggung jawab untuk proliferasi sel B setelah berkaitan dengan imunogen. *BCDF* (*B-cell differentiation factor*) bertanggung jawab terhadap diferensiasi sel B menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi (gambar 2.13).



Gambar 2.13 : Jalur aktivasi sel B (Stites, 1997)

### 2.4.5 Antibodi

Antibodi adalah bahan larut digolongkan dalam protein yang disebut globulin dan sekarang dikenal sebagai imunoglobulin. Imunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma yang berasal dari proliferasi sel B akibat adanya kontak dengan antigen (gambar 2.14).



Gambar 2.14 : Rumus bangun dasar imunoglobulin

A = rantai berat

B = rantai ringan (Baratawidjaja, 1991)

Dua fragmen tetap pada Ig yang memiliki sifat antibodi dan dapat mengikat antigen secara spesifik disebut *Fab* (*fragmen antigen binding*) dan yang tidak mengikat antigen disebut *Fc* (*fragmen crystalizable*). Semua molekul imunoglobulin mempunyai 4 rantai polipeptida dasar yang terdiri dari 2 rantai berat dan 2 rantai ringan yang identik serta dihubungkan satu sama lain oleh ikatan disulfida. Dua jenis rantai ringan (*kappa* dan *lambda*) terdiri dari 230 asam amino serta jenis rantai

berat yang tergantung pada kelima jenis imunoglobulin yaitu Ig G, Ig M, Ig D, Ig A dan Ig E.

a. Imunoglobulin M (Ig M)

Ig M adalah antibodi pertama yang dibentuk dalam respons imun. Nama M berasal dari makroglobulin. Sebagian besar sel B mengandung Ig M pada permukaannya sebagai reseptor antigen. Ig M dibentuk lebih dahulu pada respons imun primer dibandingkan dengan Ig G, oleh karena itu kadar Ig M yang tinggi merupakan petunjuk adanya infeksi dini.

b. Imunoglobulin G (Ig G)

Ig G dan komplemen bekerja sama sebagai opsonin pada pemusnahan antigen. Ig G memiliki sifat opsonin yang efektif karena sel-sel fagosit, monosit dan makrofag, mempunyai reseptor untuk fraksi Fc dari Ig G sehingga dapat mempererat hubungan antara fagosit dengan sel sasaran. Opsonin dalam bahasa Yunani berarti menyiapkan untuk dimakan. Selanjutnya proses opsonisasi tersebut dibantu oleh reseptor untuk komplemen pada permukaan fagosit.

## 2.5 Perkembangan Aktivasi *Sel Th*

### 2.5.1 Aktivasi *sel Th*

*Sel Th* ditandai dengan adanya molekul CD4 di permukaan sel ( $CD4^+$ ). Molekul CD4 ini dapat mengikat molekul *MHC II* yang terdapat pada limfosit B, makrofag atau sel pemapar antigen (*antigen presenting cell, APC*) lain.

Riseptor sel T (*T cell receptor, TCR*) pada sel *Th* dapat mengenali dan mengikat antigen yang terikat pada *MHC II*. Dalam keadaan teraktivasi dapat dibedakan dua jenis sel *Th* yaitu *Th-1* dan *Th-2*, keduanya berasal dari sel *Th* yang belum teraktivasi yaitu sel *Th* perawan (*Virgin Th Cell*) atau sel *Th* naif (*naïve Th Cell*) atau disebut juga *Th-0*. Sel *Th-0* akan berubah menjadi *Th-1* bila dipacu oleh IL-12 sedangkan *Th-2* terbentuk bila sel *Th-0* dipacu oleh IL-4 (Bottomly, 1999). Kedua fenotip *Th* berbeda dalam jenis sitokin yang disekresinya (Sigal, 1994).

### 2.5.2 Aktivasi sel *Th-1*

Sel *Th-1* akan terbentuk bila sel *Th* yang belum teraktivasi mengenali dan kemudian mengikat pada gabungan *antigen-MHC II* yang terpapar pada permukaan makrofag atau *APC* lain. Pengikatan tersebut merangsang sekresi IL-12 oleh makrofag sehingga terbentuklah fenotip *Th-1* (Bottomly, 1999). *Th-1* menghasilkan sejumlah sitogen antara lain IL-2, IFN- $\gamma$  dan TNF  $\beta$  (Sigal, 1994). IL-2 akan merangsang proliferasi sel *Th-1*. IFN- $\gamma$  (dan TNF  $\beta$ ) merangsang makrofag mensekresi berbagai senyawa seperti IL-1, TNF  $\alpha$ , NO dan  $O_2^-$  (superoksida) yang dapat membunuh mikroorganisme (Paul, 1993). Sel *Th-1* adalah sel *Th* yang berperan dalam reaksi imun yang disebut *DTH (delayed type hypersensitivity)* (Sigal, 1994).

### 2.5.3 Aktivasi sel *Th-2* dan Limfosit B

Terbentuknya fenotip *Th-2* dimulai dengan pengikatan *TCR* sel *Th* pada gabungan *antigen-MHC II* yang dipaparkan oleh limfosit B. Pengikatan ini merangsang sekresi IL-4 oleh limfosit dan mendorong perkembangan sel *Th* ke arah fenotip *Th-2*. Fenotip *Th-2* akan mensekresi sejumlah sitokin yang terpenting diantaranya adalah IL-4, IL-5 dan IL-6. IL-4 akan memacu proliferasi sel *Th-2* lebih lanjut. IL-5 (disebut juga *B cell growth factor, BCGF*) akan memacu proliferasi sel B bersama IL-4. IL-6 disebut juga *B cell differentiation factor* memacu diferensiasi menjadi plasmasit (sel plasma) yang menghasilkan imunoglobulin (Alberts, 1989, Stites, 1991). Sel *Th-2* adalah sel *Th* yang memacu imunitas humoral (imunitas yang diperantarai oleh imunoglobulin). Akhir-akhir ini ditemukan bahwa fenotip *Th-2* dapat juga dipicu oleh *APC* khusus yang disebut *DC-2 (Dendritic cell-2)* namun sitokin yang memacunya belum diketahui (Bottomly, 1999) yang jelas *DC-2* tidak mensekresi IL-4.

### 2.5.4 Aktivasi sel *T<sub>C</sub>*

Sel *T<sub>C</sub>* ditandai dengan adanya molekul CD 8 dipermukaan sel (*CD 8<sup>+</sup>*). Molekul CD 8 dapat mengikat *MHC-I* yang terdapat pada permukaan semua sel yang berinti. Aktivasi sel *T<sub>C</sub>* dimulai bila *TCR* sel *T<sub>C</sub>* mengenali dan mengikat gabungan *antigen-MHC-I*. Pengikatan *TCR* sel *T<sub>C</sub>* dengan gabungan *antigen-MHC-I* memicu sekresi senyawa sitotoksik yaitu perforin (Sigal, 1994) dan *fast ligand* (Fas L) (Ashkenazi, 1998). Perforin akan menembus membran sel sasaran sehingga terjadi

kebocoran pada membran sel. Akibat kebocoran ini akhirnya menimbulkan sitolisis (Sigal, 1994). Fas L akan mengikat pada reseptornya yaitu fas dan selanjutnya memicu kematian sel melalui apoptosis (Ashkenazi, 1998). Proliferasi sel  $T_C$  dipicu oleh IL-2 yang antara lain dihasilkan oleh sel *Th-1* tetapi dapat juga dihasilkan oleh sel  $T_C$  (Sigal, 1994).

## 2.6 Hubungan Stres dengan Respons Imun

Istilah stres pada awalnya digunakan untuk menjelaskan paradigma psikologis namun istilah ini mulai digunakan dalam paradigma biologis pada tahun 1946 oleh Selye (McCance, 1994, Kaplan, 1995, Zubkova, 1995, Trosko, 1998). Istilah ini secara luas digunakan untuk menjelaskan respons biologik terhadap situasi yang mengancam. Selye menemukan suatu hormon *sex* baru pada saat timbulnya sindrom biologis stres. Selye menginjeksikan ekstrak ovarian pada tikus, ternyata tindakan tersebut menimbulkan tiga perubahan struktur yaitu (1) pembesaran kelenjar kortek adrenal, (2) atropi kelenjar timus dan struktur limfoid lain dan (3) terjadinya perdarahan ulkus pada duodenum dan perut. Selye menyimpulkan bahwa ketiga perubahan tersebut merupakan manifestasi sindrom respons yang tidak spesifik terhadap *noxious stimuli (stressor)*. Perubahan tersebut diduga merupakan *general adaptation syndrome (GAS)* yaitu *alarm stage*, *adaptation stage* dan berakhir dengan *exhaustion stage*. Uraian ini menunjukkan bahwa istilah stres digunakan untuk menggambarkan respons individu (manusia) atau binatang terhadap *stressor* (McCance, 1994). Dalam kurun waktu ini, berbagai penelitian dilakukan untuk



mengungkap fenomena psikologi dan fisiologi yang berkaitan dengan stres. Dengan kata lain stimuli emosional atau psikologik berperan atau bahkan menyebabkan timbulnya gangguan fisik (penyakit), sehingga sekitar tahun 1950 dilaporkan bahwa faktor psikososial berkaitan dengan penyakit infeksi. Menurut V Riley pada tahun 1981, banyak penelitian yang telah mencermati kaitan stres dengan peningkatan proses neoplastik dan kerentanan terhadap infeksi mikroorganisme. Kemajuan di bidang imunologi, endokrinologi dan neurobiologi, merupakan faktor penting yang mendasari penjelasan terhadap modulasi respons biologis yang merugikan individu pada saat stres. Kaitan stres dengan penyakit telah lama dipikirkan ilmuwan. Galen pada tahun 200 M menyatakan bahwa *melancholic women* mengalami kanker payudara lebih banyak bila dibandingkan *sanguin women* (Mc Cance, 1994). Namun untuk dapat menjelaskan mekanisme hubungan seseorang yang stres dengan peningkatan insiden penyakit memerlukan berbagai studi. Kemajuan imunologi, endokrinologi dan neurobiologi. Selanjutnya muncul kajian psikoneuroendokrinologi dan kemudian psikoneuroimunologi.

Pemunculan konsep neuroimunologi diawali oleh lesi hipotalamus yang terbukti dapat menurunkan fungsi sistem imun pada hewan coba. Istilah neuroimunologi tersebut dimaksudkan untuk menggambarkan studi tentang modulasi sistem imun yang diregulasi oleh sistem syaraf (Martin, 1987). Sedangkan konsep immunoendokrinologi mulai dikenalkan dengan adanya pemikiran bahwa kesenjangan dengan *hipothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis* terdapat *lymphocyte-pituitary-adrenal (LPA) axis*. Limfosit dapat menghasilkan *ACTH like peptide* bila dirangsang

dengan CRF. Blalock mengajukan pemikiran bahwa sistem imun dan neuroendokrin berintegrasi dengan sejumlah hormon yang dihasilkan. Perkembangan kedua kajian tersebut telah mendekatkan fenomena stres dengan peningkatan metastasis dan kerentanan terhadap infeksi. Kerangka konseptual ini dibangun berdasar atas konsep modulasi sistem imun melalui *HPA axis*. Menurut JB Martin pada tahun 1938, neuroendokrinologi merupakan studi tentang hubungan antara sistem syaraf dengan sistem endokrin; sedang neuroimunologi merupakan studi tentang reaksi imun yang melibatkan sistem syaraf pusat dan perifer. Neuroimunologi juga dimaksudkan untuk memberi nama atau sebutan terhadap studi tentang mekanisme sistem syaraf yang memodulasi sistem imun. Imunoendokrinologi merupakan studi tentang cara sel imunokompeten yang dapat memodulasi fungsi endokrin. Semua perkembangan studi tersebut memunculkan konsep psikoneuroimunologi, yang digunakan untuk menjelaskan peningkatan proses neoplastik dan kerentanan infeksi pada individu (manusia) yang stres (Martin, 1987). Sebagai contoh, banyak peneliti yang bertujuan untuk menghubungkan antara bentuk stres dan proses neoplastik. Fakta ini menjadi dasar perkembangan awal kajian psikoneuroimunologi yang terbentuk sebagai interaksi imunologi, endokrinologi dan neuroimunologi. Hasil penelitian pada binatang coba menunjukkan bahwa sel kanker berkembang baik pada individu dengan *immune surveillance* yang dirusak. Sebaliknya, sel kanker dapat mengalami regresi spontan pada individu yang mengalami perbaikan *immune surveillance*. *Immune surveillance* merupakan kegiatan imunologik yang melindungi tubuh dari penyakit, jadi pada dasarnya *immune surveillance* merupakan respons imun yang

menguntungkan tubuh. Penurunan *immune surveillance* tersebut dimungkinkan dengan adanya stres. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa individu yang stres maka sistem imunnya terimbas. Stres mengaktifkan sistem hipofisis-adrenal. Pengaktifan ini terutama melalui neuropeptida hipotalamus yang disebut *corticotropin releasing factor (CRF)*. *CRF* akan mengaktifkan hipofisis mengeluarkan *adrenocorticotropin (ACTH)*. Bahan ini akan memicu kelenjar adrenal menghasilkan kortisol. *ACTH* dan kortisol telah diakui sebagai indikator stres, karena keduanya dapat menurunkan *immune surveillance*. Keadaan ini akan menguntungkan perkembangan penyakit yaitu bagi sel kanker. Sekresi kortisol diatur oleh *ACTH*. Selain *ACTH*, sekresi kortisol juga dipengaruhi oleh rangsangan syaraf dan otak sebagai respons terhadap stres. Peran *ACTH* pada sekresi kortisol terjadi melalui interaksi antara hipotalamus-pituitary- kortek adrenal (*HPA-axis*).

JB Martin pada tahun 1938 menyatakan bahwa, awal pemunculan pemikiran yang mendasari lahirnya konsep psikoneuroimunologi adalah (1) keadaan emosi yang menentukan fungsi imun, dan (2) stres yang dapat meningkatkan kerentanan infeksi dan karsinoma. Pada individu tingkat tinggi maka *personality, behavior, coping style, emosional state* berperan pada modulasi fungsi sistem imun (Martin, 1987). Berbagai penjelasan terhadap konsep psikoneuroimunologi terus berlanjut, semuanya dimaksudkan untuk menggambarkan pengertian istilah psikoneuroimunologi. Menurut R Ader pada tahun 1975, walaupun sejauh ini belum ada konsep yang memuaskan, namun dari berbagai kajian penelitian telah diketahui bahwa *biological basis of psychoneuroimmunology* banyak diperoleh dari *study of behavior, stress*

*and immune system* (Riley,1981) Pelletier dan Herzing pada tahun 1988, mendefinisikan psikoneuroimunologi sebagai ilmu yang mempelajari interaksi kesadaran, otak dan susunan syaraf pusat serta ketahanan tubuh terhadap infeksi dan pembelahan sel yang tidak normal (Mc Cance,1994). Berdasar definisi tersebut maka istilah psikoneuroimunologi banyak dipahami untuk menggambarkan suatu area kajian.

Pencermatan terhadap konsep yang mengkaitkan berbagai bentuk stres dengan peningkatan proses neoplastik dan kerentanan infeksi bersumber pada pencermatan *behavior*, memunculkan *present perspective in stress and immunocompetent corelation* (Putra,1999). Perspektif V Riley tersebut menunjukkan bahwa komposisi utama yang merupakan *basic biological concept of psychoneuroimmunology*, yang akan menjadi dasar *behavioral medicine*, adalah *stress immunocompetent system*. Dengan demikian maka konsep psikoneuroimunologi yang paling mendasar adalah *behavior of stress immunocompetent system* atau *basic biological concept of psychoneuroimmunology* adalah *modulation of stress immunocompetent system* (Riley, 1981). Konsep ini telah digunakan pada penelitian pengaruh alkil benzen sulfonat dalam deterjen terhadap respons imun mukosa usus menciit (Sriwahyuni, 1999).

Mengikuti perkembangan konsep stres, pemahaman dan definisi stres ikut berkembang pula . Ostell, tahun 1991 menyatakan stres sebagai konsep transaksional atau interaksional yang lebih menekankan sebagai suatu peristiwa yang timbul apabila seseorang berhubungan dengan situasi dalam cara tertentu. Dalam hal ini

yang lebih penting adalah bagaimana cara menanggapi atau reaksinya terhadap situasi tersebut.

Perkembangan konsep psikoneuroimunologi yang lebih terfokus pada *behavior of stress immunocompetent system (immune system)* telah membuka peluang terhadap berbagai penelitian terhadap *stress cell*. Sejak terungkapnya *stress protein* maka perkembangan penelitian *stress cell* semakin berkembang. Sejak saat itu pula penggunaan istilah stres tidak lagi hanya berlaku untuk individu tingkat tinggi yang kompleks, tetapi juga digunakan untuk menggambarkan respons organ, sistem, sel terhadap *stressor*. Hal ini ditunjukkan dengan suatu penelitian yang menggunakan stimuli stres terhadap kortex adrenal. Stres akan menimbulkan perubahan biokimia organ ini dalam upaya merespon *signal* dari hipotalamus sehingga mengeluarkan sejumlah corticosterone. Stres juga dialami oleh sel. Pada *adrenalectomy*, jejas pada organ limfoid menyebabkan terganggunya sel B dan sel T organ tersebut (Panerai, 1997).

Pada penelitian *stress cells* banyak ditemukan berbagai substansi yang mengisyaratkan sel tersebut mengalami stres, yang disebut *stress signaling substances* yang terbentuk sebagai *stress cell response*. Sel endotel yang terpapar *heat shock (stressor)* akan menghasilkan *heat shock protein (HSP)-72*. Protein ini dapat mencegah proses nekrosis pada sel endotel (Wang, 1995). Penelitian dengan menggunakan laser He-Ne menyatakan tidak terbentuk Hsp pada desmodontal maupun fibroblast tikus (Hashieh, 1997). IL-4 yang diproduksi oleh limfosit *Thelper-2* dapat memperlambat apoptosis pada neutrofil, karena IL-4 merangsang

sintesis RNA dan mengaktifkan penyusunan kembali *neutrophil cytoskeletal* (Girard, 1997). Uraian terhadap berbagai hasil penelitian pada *stress cell* tersebut menunjukkan bahwa pada *stress cell* terjadi *stress signaling substances* yang dapat meneruskan *signal* ke sel lain.

## 2.7 Dampak Penyinaran Laser Daya Rendah Terhadap Sistem Imun

Penyinaran laser daya rendah dapat menimbulkan beberapa akibat yang menguntungkan, antara lain: penyembuhan luka, perbaikan jaringan, menghambat peradangan, memicu proliferasi dan diferensiasi sel serta memacu sistem imun.

Penyinaran laser daya rendah dapat memicu proliferasi dan diferensiasi sel imunokompeten namun bagaimana mekanismenya masih belum jelas. Salah satu mekanismenya adalah melalui pacuan terhadap sekresi sitokin oleh sel-sel imun. Penyinaran dengan menggunakan laser He-Ne terhadap *peripheral bloodmononuclear cell (PBMC)* diketahui dapat meningkatkan sekresi sejumlah sitokin yaitu IL-1 alfa, IL-2 TNF alfa dan IFN gamma.

*PBMC* adalah sel-sel darah yang merupakan campuran dari monosit, limfosit, limfosit T dan sel NK (*natural killer*). Monosit merupakan pendahulu precursor dari makrofag dan sejumlah *APC* lain. Tidaklah jelas sel mana yang menghasilkan sitokin tersebut. IL-2 dan INF gamma diketahui dihasilkan oleh sel *Th-1* sedangkan TNF alfa dan IL-1 alfa diketahui dihasilkan oleh makrofag yang terangsang oleh INF gamma. IL-2 juga dihasilkan oleh sel *T<sub>C</sub>*. Selain itu IL-2 juga dapat merangsang proliferasi sel *Th-1* dan *T<sub>C</sub>*. Penelitian Passarella (1985) menunjukkan bahwa penyinaran dengan

laser He-Ne terhadap *PBMC* meningkatkan pengikatan bakteri sel salmonella pada limfosit. Jenis limfosit yang dapat mengikat bakteri adalah limfosit B. Ini terjadi bila imunoglobulin yang dipaparkan pada membran limfosit B mengenali *antigenic determinant* yang terdapat pada dinding sel bakteri. Pada penelitian tersebut ditunjukkan pula bahwa terjadi peningkatan limfosit yang mengikat bakteri (kemungkinan proliferasi limfosit B) serta peningkatan reseptor yang mengikat bakteri (kemungkinan aktivasi limfosit B). Semua peristiwa ini menunjukkan bahwa mungkin telah terjadi respons imun humoral yang pada akhirnya akan meningkatkan kadar imunoglobulin dalam darah. Bakteri yang terikat oleh limfosit B akan mengalami endositosis dan setelah mengalami pemrosesan dalam lisosom akan mengeluarkan antigen peptida yang kemudian akan dimunculkan berikatan dengan molekul *MHC II* pada permukaan limfosit B. Bila gabungan *antigen-MHC II* ini dikenali oleh *TCR* sel *Th* maka akan dimunculkan fenotip *Th-2* disusul dengan proliferasi limfosit B dan diferensiasi limfosit B menjadi plasma sel yang mensekresi imunoglobulin. Dari semua yang diuraikan di atas dapat diduga bahwa penyinaran laser dapat memicu respons imun seluler (melalui sel *T<sub>C</sub>* dan *Th-1*) maupun respons imun humoral (melalui limfosit B dan *Th-2*). Kebenaran dugaan ini masih harus dibuktikan melalui penelitian.

Sejauh ini, beberapa penelitian laser daya rendah menunjukkan keterkaitan antara laser dan jaringan dengan menggunakan variabel imunologik, menyatakan :

1. dengan menggunakan laser daya rendah terjadi peningkatan aktivitas fagositik dan kemotaktik lekosit manusia secara in vitro (Ohta, 1987, Kolarova, 1991, Tadakuma, 1993, Dong, 1996, Kasymov, 1997).
2. Sifat adhesif makrofag meningkat 2-5x, prosentasi fagosit meningkat 1-3x, Ig A meningkat 3,5x setelah penyinaran laser pada nonobstruktif bronchitis (Ivaniuta, 1991)
3. Laser He-Ne menstimulasi produksi kolagen dan fibroblas bila kekuatannya 1,56 mW,  $E = 1,2 \text{ J/cm}^2$ . Penyembuhan kulit manusia tampak setelah 1-2 minggu (Lyon, 1987, Bednarska, 1998).
4. Penyinaran laser He-Ne selama 2 menit meningkatkan gerak fibroblas (Noble, 1992, Hrnjak, 1995 ) dan laser GaAlAs (Pogrel, 1997).
5. Dosis laser He-Ne (5-10 J/cm<sup>2</sup>) akan meningkatkan aktivitas fagositik (Kolarova, 1991)
6. Selain itu Funk (1992), menyatakan peningkatan kadar sitokin setelah penyinaran laser He-Ne 30 menit (632,8 nm, 18 J/cm<sup>2</sup>), sedangkan setelah 60 menit penyinaran (37,8 J/cm<sup>2</sup>) kadar sitokin menurun secara bermakna.
7. Penggunaan laser GaAlAs diode (60 mW) 1x/hari selama 3-10 menit (10,8 – 36,0 J) dalam 5 hari berturut-turut memberikan efek penghambatan produksi PGE<sub>2</sub> dan IL-1b pada ligamen periodontal (Soudry, 1988, Ozawa, 1997).
8. Laser GaAlAs yang energinya berkisar antara 2,17-651 mJ/cm<sup>2</sup> pada energi sekurang-kurangnya 10,85 mJ/cm<sup>2</sup> berpengaruh terhadap sistem imun baik in vitro (pada limfosit manusia) maupun in vivo (proliferasi sel) (Ohta, 1987).

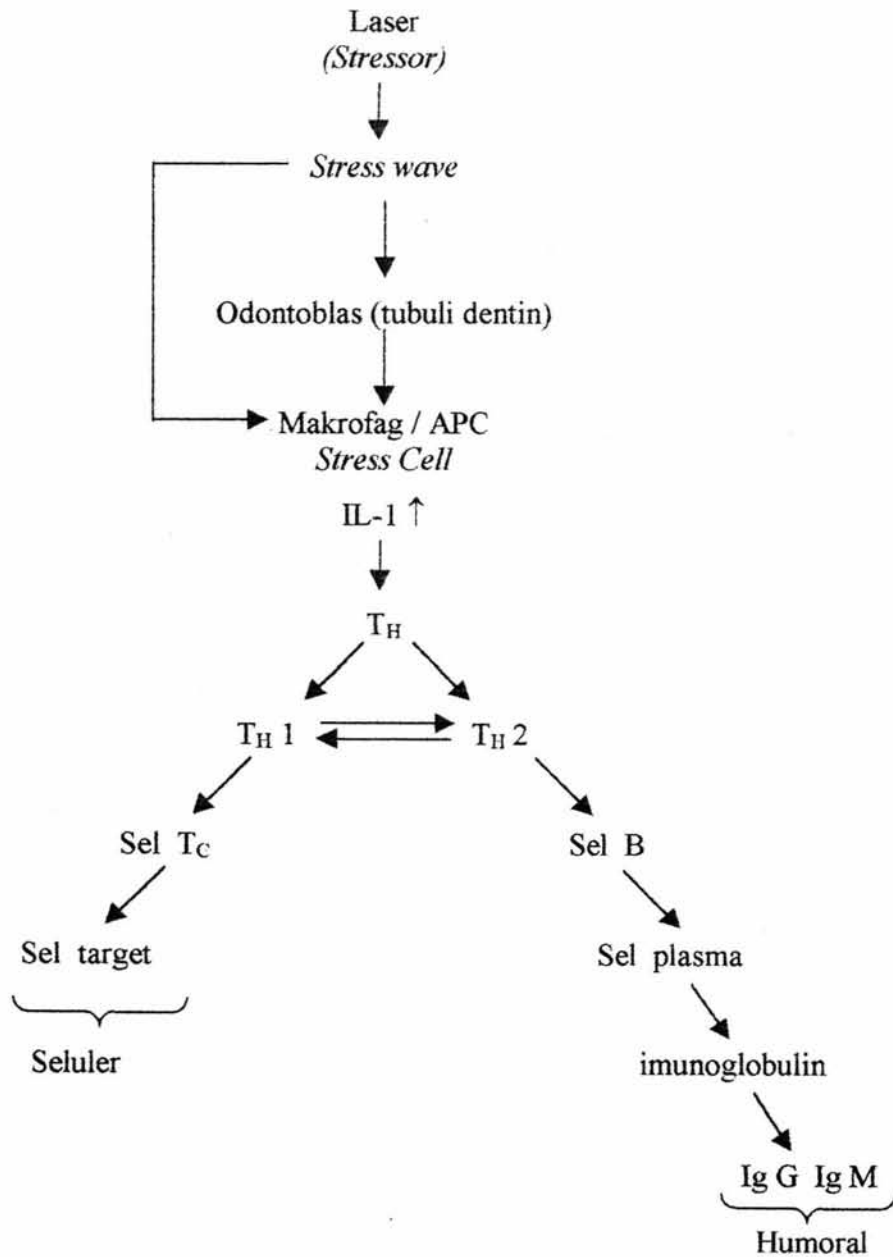


9. Lee, (1997), Doukas and Flotte (1996) menyatakan bahwa laser menimbulkan stress wave, yang mempengaruhi permeabilitas membran sel.
10. Zubkova (1995) laser infra red menstimulasi DNA, termasuk transkripsi dan translasi (Greco, 1989).
11. Burn (1994), laser GaAlAs dapat untuk sterilisasi kavitas gigi.

**BAB 3**

**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1 Kerangka Konseptual**



Gambar 3.1 : Skema Kerangka Konseptual Penelitian

Sinar laser merupakan *stressor* karena mengeluarkan *stress wave* yang menimbulkan stres pada pulpa. *Stress wave* masuk ke pulpa melalui tubuli dentin. *Stress wave* ini menyebabkan makrofag di pulpa stres, yang akan meningkatkan sintesis IL-1 (Yu, 1996; Reale, 1997; Trosko, 1998; Karu, 1998). Selanjutnya peningkatan IL-1 tersebut akan memodulasi *Thelper*, sehingga sel tersebut mengalami perubahan perilaku sebagai *Thelper-1* dan *Thelper-2*. Perubahan perilaku *Thelper* tersebut akan memodulasi efektor respons imun seluler dan humoral.

### 3.2 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Paparan laser GaAlAs memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun pulpitis reversibel.
2. Paparan laser GaAlAs tidak memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun pulpitis ireversibel.
3. Paparan laser GaAlAs menimbulkan variasi kualitas respons imun pada pulpitis.

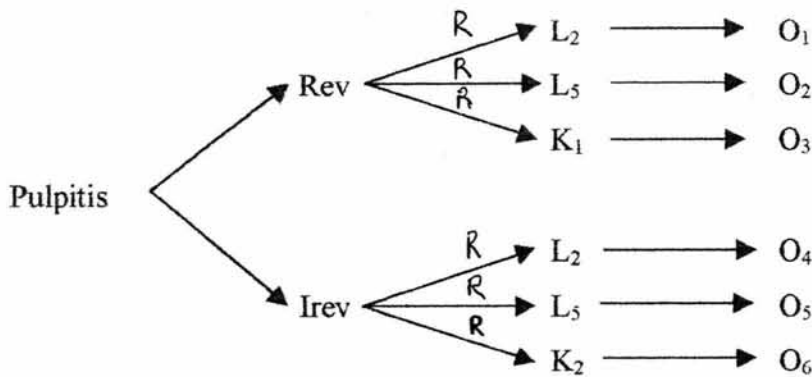
## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap efek biomodulasi laser GaAlAs terhadap respons imun pulpitis dan merupakan penelitian *experimental randomized post test control group design*. Untuk mengetahui efek laser maka dilakukan paparan laser selama 2 menit dan 5 menit. Perubahan yang diamati adalah perubahan respons imun dengan pendekatan patobiologis yang berkonsep pada *stress immunocompetent cell* yaitu suatu pendekatan berdasarkan atas perubahan respons imun pulpitis akibat *stressor*. Adapun prinsip yang harus dipenuhi dalam penelitian eksperimental, pertama replikasi yaitu sejumlah pengulangan perlakuan yang dilakukan pada sampel, yang dicerminkan pada besar sampel. Kedua, randomisasi yang dilakukan pada saat pembagian sejumlah sampel penelitian. Ketiga adanya kelompok kontrol atau pembanding yang tanpa diberi paparan laser. Penelitian ini menggunakan dua kelompok sampel yang pembagiannya berdasarkan atas diagnosis klinik yaitu kelompok pulpitis reversibel dan pulpitis ireversibel. Selanjutnya setiap kelompok dibagi tiga kelompok secara *random*, yaitu pulpitis reversibel tanpa paparan laser, pulpitis reversibel dengan paparan laser 2 menit, pulpitis reversibel dengan paparan laser 5 menit. Pada pulpitis ireversibel dibagi menjadi tiga yaitu kelompok pulpitis ireversibel tanpa paparan laser, pulpitis ireversibel dengan paparan laser 2 menit dan pulpitis ireversibel dengan paparan laser 5 menit.

Adapun rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



#### Keterangan :

Rev : Pulpitis reversibel.

Irev : Pulpitis ireversibel.

L<sub>2</sub> : Paparan laser selama 2 menit.

L<sub>5</sub> : Paparan laser selama 5 menit.

K<sub>1</sub> : Kontrol atau pembandingan untuk pulpitis reversibel tanpa paparan laser.

K<sub>2</sub> : Kontrol atau pembandingan untuk pulpitis ireversibel tanpa paparan laser.

## 4.2 Pendekatan

Dalam penelitian ini menggunakan paradigma patobiologis yang berkonsep pada sel imun yang mengalami stress (*stress immunocompetent cell*) yang berupa perubahan respons imun secara morfofungsi. Perubahan tersebut dipolakan untuk mengetahui kualitas respons imun dengan memperhitungkan kontribusi setiap perubahan variabel respons imun pada aktivitas biologisnya. Uji statistik yang digunakan adalah multivariat (Manova dan Analisis Diskriminan) karena konsep tersebut merumuskan interaksi variabel komponen respons imun dalam satu kesatuan.

## 4.3 Populasi, Sampel dan Unit Analisis

### 4.3.1 Populasi

Populasi penelitian adalah gigi yang didapat dari penderita dengan kriteria :

1. Umur 17 – 40 tahun.
2. Kesehatan umum baik, ditandai oleh pemeriksaan fisik dan ditunjang oleh pemeriksaan laboratorium yaitu pemeriksaan darah dan urine rutin.

Dari penderita tersebut diambil 3 kelompok sampel gigi dengan kriteria umum :

1. Vital (jaringan pulpa masih berfungsi ditentukan dengan *vitalitester*), karies profunda primer.
2. Salah satu gigi 13, 12, 11, 21, 22, 23, 45, 44, 43, 33, 34, 35 untuk indikasi pencabutan ortodontik dan prostodontik yang mengalami :
  1. Pulpitis reversibel
  2. Pulpitis ireversibel

#### 4.3.2 Sampel

Sampel penelitian yaitu jaringan pulpa gigi yang didapat dari populasi yang memenuhi kriteria tersebut diatas.

Estimasi besar sampel (Pujirahardjo, 1993) :

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})\sigma^2}{(X_p - X_k)^2}$$

Dengan :

n	=	besarnya masing masing kelompok sampel
$Z_{\alpha}$	=	nilai standar normal, yang besarnya tergantung $\alpha$
$Z_{\beta}$	=	nilainya tergantung yang ditentukan
$\beta$	=	power test
$\sigma$	=	varian populasi
$X_p$	=	rerata perlakuan
$X_k$	=	rerata kelompok kontrol

Dengan menghitung estimasi besar sampel untuk setiap kelompok berdasarkan pada variabel IgM, maka didapat  $n = 8,506 \approx 9$ .

Hasil perhitungan di atas menunjukkan besar sampel = 9 untuk setiap kelompok.

### **4.3.3 Unit Analisis**

Unit analisis yang digunakan pada penelitian adalah jaringan pulpa yang diambil dari hasil pencabutan gigi pulpitis akibat karies dengan indikasi pencabutan.

## **4.4 Variabel Penelitian**

### **4.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas yang meliputi variabel penggunaan laser selama 2 menit dan laser 5 menit. Pertimbangan penggunaan laser 2 menit dan 5 menit yaitu bahwa penggunaan laser selama ini sesuai dengan indikasi yaitu 2 menit. Sedangkan variabel laser selama 5 menit dipilih karena pada penelitian tentang penyembuhan tendon dengan laser GaAlAs tersebut tercapai dengan penggunaan laser selama 5 menit (Kert, 1989).

### **4.4.2 Variabel Tergantung**

Variabel tergantung adalah variabel yang hendak diteliti, merupakan variabel yang menentukan perubahan respons imun. Variabel tergantung dalam penelitian ini meliputi makrofag, subset limfosit *Thelper*  $CD4^+$ , subset limfosit *Tcytotoxic*  $CD8^+$ , imunoglobulin M (IgM), imunoglobulin G (IgG). Pertimbangan makrofag sebagai

salah satu variabel tergantung karena makrofag memegang peran penting dalam respons imun, yaitu bertindak sebagai pemicu awal berfungsinya komponen respons imun lainnya. Pertimbangan pemilihan subset limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup> yaitu pada respons imun berfungsi untuk memicu limfosit B agar berdiferensiasi menjadi sel plasma dan menghasilkan imunoglobulin. Pemilihan limfosit *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup> berperan penting dalam menghancurkan imunogen pada respons imun seluler. Imunoglobulin yang dipilih yaitu IgG dan IgM. IgG karena berperan aktif dalam pemusnahan antigen sedangkan IgM terbentuk pada awal reaksi imun primer. IgG dan IgM ini dihasilkan oleh sel plasma aktif. Sel plasma yang aktif ini merupakan diferensiasi limfosit B yang dipicu oleh limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup>, kemudian menghasilkan imunoglobulin tersebut.

#### 4.5 Definisi Operasional

1. Paradigma patobiologis berkonsep *stress immunocompetent cell* adalah model berpikir berdasar atas perubahan biologis yang merugikan, yang tercermin pada modulasi respons imun di jaringan pulpa karena sel imunokompeten mengalami stres.
2. Pulpitis reversibel, yaitu gigi dengan gigi profunda pada bidang oklusal atau labial yang pulpanya telah terbuka atau tertutup selapis dentin tipis maksimal 1 mm setelah ekskavasi, tidak ada rasa sakit spontan, perkusi dan tekanan negatif, pada Roentgen foto jaringan periapikal normal.



3. Pulpitis ireversibel, yaitu gigi karies profunda pada bidang oklusal atau labial yang pulpanya telah terbuka dan ada rasa sakit spontan, perkusi dan tekanan positif, pada Roentgen foto jaringan periapikal ada pelebaran periodontal membran.
4. Pola respons imun pulpitis adalah visualisasi kualitas respons imun berdasar atas model interaksi variabel diskriminan dengan memperhitungkan kontribusi setiap variabel terhadap modulasi respons imun pada pulpitis yang terpapar laser GaAlAs.

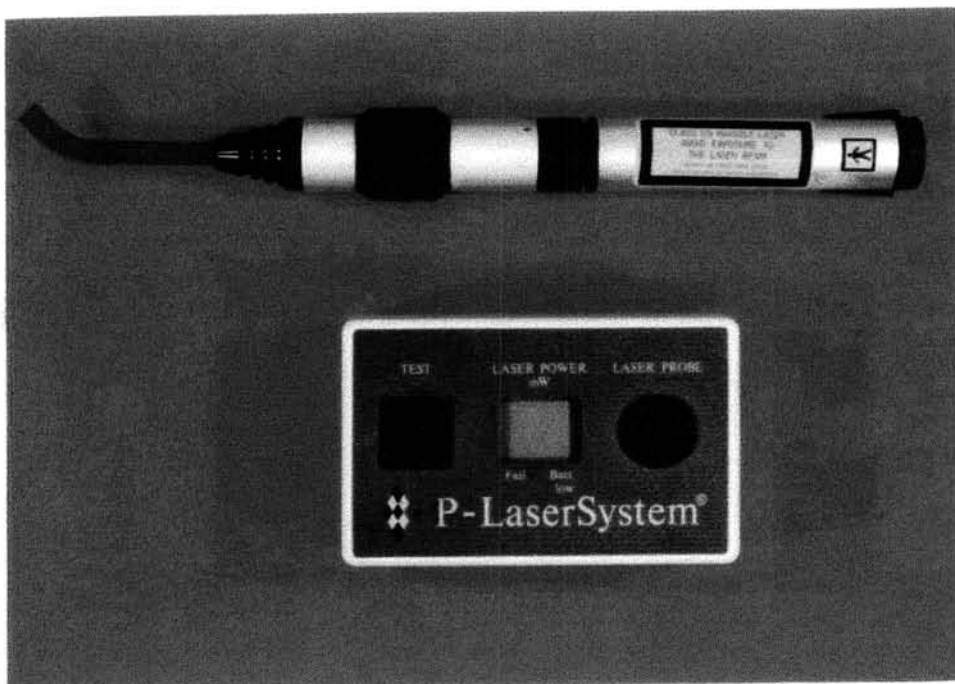
#### **4.6 Bahan dan Alat Pemeriksaan**

##### **4.6.1 Bahan untuk memproses jaringan pulpa**

- a. Penanaman jaringan pulpa unit analisis
  1. parafin digunakan untuk menanam jaringan pulpa fiksasi
  2. OCT Compound digunakan untuk menanam jaringan segar
- b. Reagen untuk pewarnaan jaringan
  1. IMMUNO STAIN KIT untuk pewarnaan jaringan fiksasi, yaitu mengamati imunoglobulin ( IgG, IgM).
  2. BECTON DICKINSON KIT untuk pewarnaan jaringan segar yaitu mengamati makrofag, CD4 dan CD8

#### 4.6.2 Alat untuk pemeriksaan

1. Alat diagnostik gigi meliputi kaca mulut, sonde, excavator, pinset gigi, chlor aethyl, vitalitester untuk memeriksa vitalitas gigi, alat Roentgen foto untuk memeriksa jaringan penyangga gigi.
2. Alat untuk mengeluarkan jaringan pulpa sebagai unit analisis dari gigi setelah dicabut, digunakan peralatan meliputi dis karborandum, *handpiece*, bor, *chisel*, *mallet*, *excavator* dan pinset.
3. Alat untuk pemeriksaan komponen respons imun yaitu mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan *graticulae* untuk memudahkan perhitungan sel.
4. Alat laser dengan ciri : diode 50 mW GaAlAs, panjang gelombang 830 nm, divergen  $9^\circ$  dan ada cahaya petunjuk, *Adjustable timer* 15-30-60-120 detik.



Gambar 4.1 : Alat laser GaAlAs

#### **4.7 Tempat Penelitian**

Dilakukan pada Puskesmas Pembina Tingkat Kecamatan yaitu Puskesmas Pembina Jatinegara dan Puskesmas Pembina Matraman di wilayah Suku Dinas Kesehatan Jakarta Timur. Pemilihan Puskesmas pembina tersebut karena fasilitas diagnostik yang tersedia sangat menunjang pelaksanaan penelitian agar lebih praktis baik bagi peneliti maupun bagi penderitanya. Pada Puskesmas tersebut telah tersedia laboratorium untuk pemeriksaan darah dan urin lengkap, pemeriksaan Roentgen foto gigi, poli gigi dan poli umum. Puskesmas Pembina Jatinegara tersebut telah meraih peringkat I nasional dalam segi pelayanan medis. Setiap Puskesmas tersebut kurang lebih terdiri dari 13 Puskesmas Tingkat Kelurahan. Jumlah pasien yang berobat ke poli gigi setiap hari berkisar 50 – 75 orang yang membutuhkan pelayanan penambalan gigi, pembuatan protesa atau ortodonti. Dengan demikian dimungkinkan mendapatkan kasus pencabutan gigi vital yang diindikasikan.

#### **4.8 Tahapan Penelitian**

##### **4.8.1 Pengambilan Jaringan Pulpa**

1. Penentuan jaringan pulpa secara klinis, pulpitis reversibel atau pulpitis ireversibel berdasarkan gejala subyektif dan obyektif.
2. Pemeriksaan Roentgen foto untuk menentukan keadaan jaringan periapikal gigi dan kedalaman karies.
3. Memberikan penjelasan pada pasien untuk selanjutnya mengisi formulir persetujuan dengan persetujuan ijin instansi terkait.

4. Pemeriksaan darah dan urin rutin dan pemeriksaan fisik penderita untuk menentukan kesehatan umum dan homogenitas sampel.
5. Pengambilan jaringan karies dengan *excavator* lalu diberi tumpatan sementara dengan kapas dan cavit.
6. Penyinaran laser 2 menit atau 5 menit atau tanpa laser secara random, yaitu 3 hari setelah Roentgen foto.
7. Penumpatan sementara kavitas gigi dengan kapas dan cavit.
8. Pencabutan gigi 7 hari setelah penyinaran laser.
9. Pengambilan jaringan pulpa gigi yaitu setelah gigi dicabut, dengan cara dibelah menggunakan *chisel* dan *mallet*.
10. Pembuatan sediaan mikroskopik dengan pemrosesan jaringan segar untuk limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup> dan limfosit *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup> dan jaringan fiksasi untuk IgG dan IgM serta makrofag.
11. Perhitungan jumlah masing masing sel imun. Dalam perhitungan jumlah sel, maka dilakukan perhitungan jumlah sel per lapangan pandang dengan menggunakan *graticulae* yang dilekatkan mikroskop cahaya pembesaran 400x, pada setiap preparat hasil pewarnaan imunoperoksidase. Untuk mencapai validitas data maka perhitungan sel dilakukan oleh pengamat 1 (peneliti) dan pengamat 2 (*secondary observer*).

#### 4.8.2 Pembuatan sediaan mikroskopik

##### a. Jaringan fiksasi

1. Jaringan pulpa yang telah difiksir dalam larutan Buffer formalin minimal 24 jam, dilakukan pemrosesan otomatis, kemudian ditanam dalam blok parafin.
2. Blok parafin dipotong setebal 4  $\mu\text{m}$  dengan menggunakan mikrotom, dan irisan parafin dimasukkan dalam *water bath* dengan suhu 48° C.
3. Irisan jaringan pulpa ditempatkan pada gelas obyek, dan setelah mengembang sempurna dimasukkan dalam oven (alat pengering khusus) dengan suhu 56-60° C siap dilakukan perwarnaan sesuai dengan komponen yang akan diamati (Prayitno, 1993).

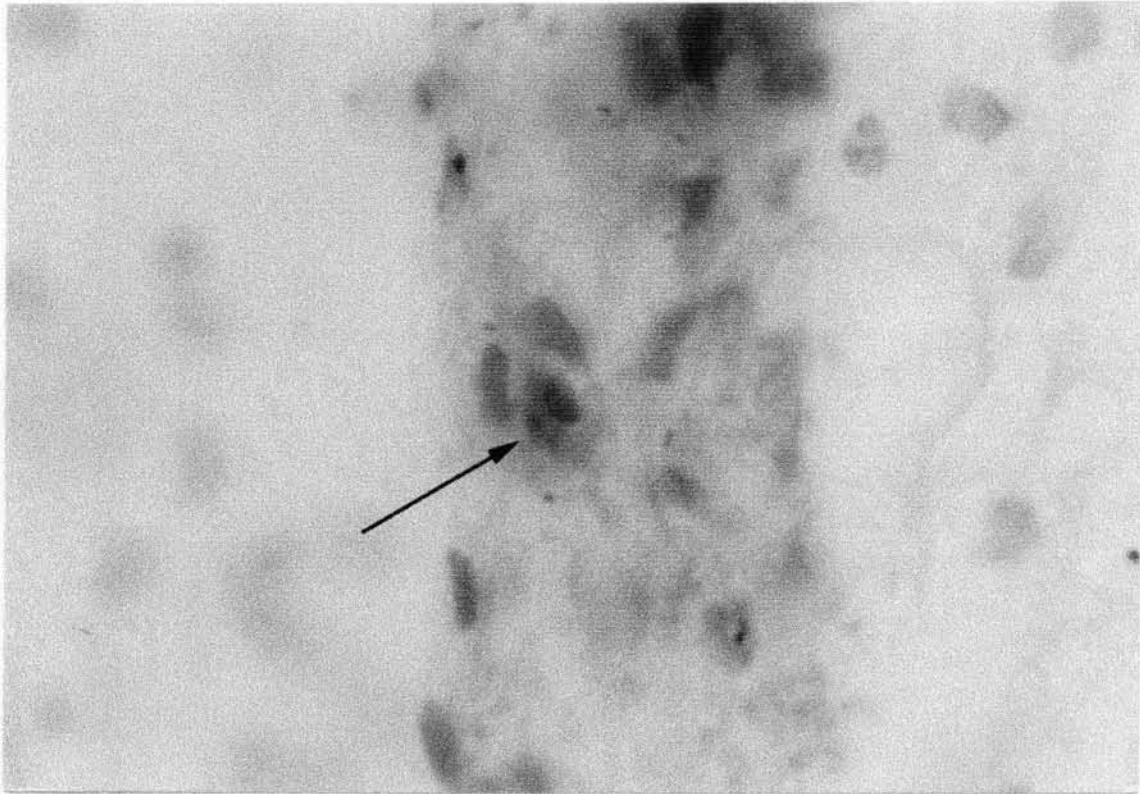
##### b. Jaringan segar

1. Jaringan pulpa yang dibungkus *aluminium foil* dan disimpan dalam alat pendingin dikeluarkan dan dibuat blok dengan menggunakan bahan tanam resin merk "OCT Compound" dan dimasukkan ke dalam mesin *cryostat* dengan suhu -10° sampai -20° C.
2. Setelah cairan bahan tanam membeku dan berwarna putih, maka jaringan sudah siap untuk dipotong.
3. Tebal potongan dibuat 5-6  $\mu\text{m}$  dan diletakkan pada gelas obyek, kemudian didiamkan dalam udara terbuka selama 15 menit agar bahan tanam cair.

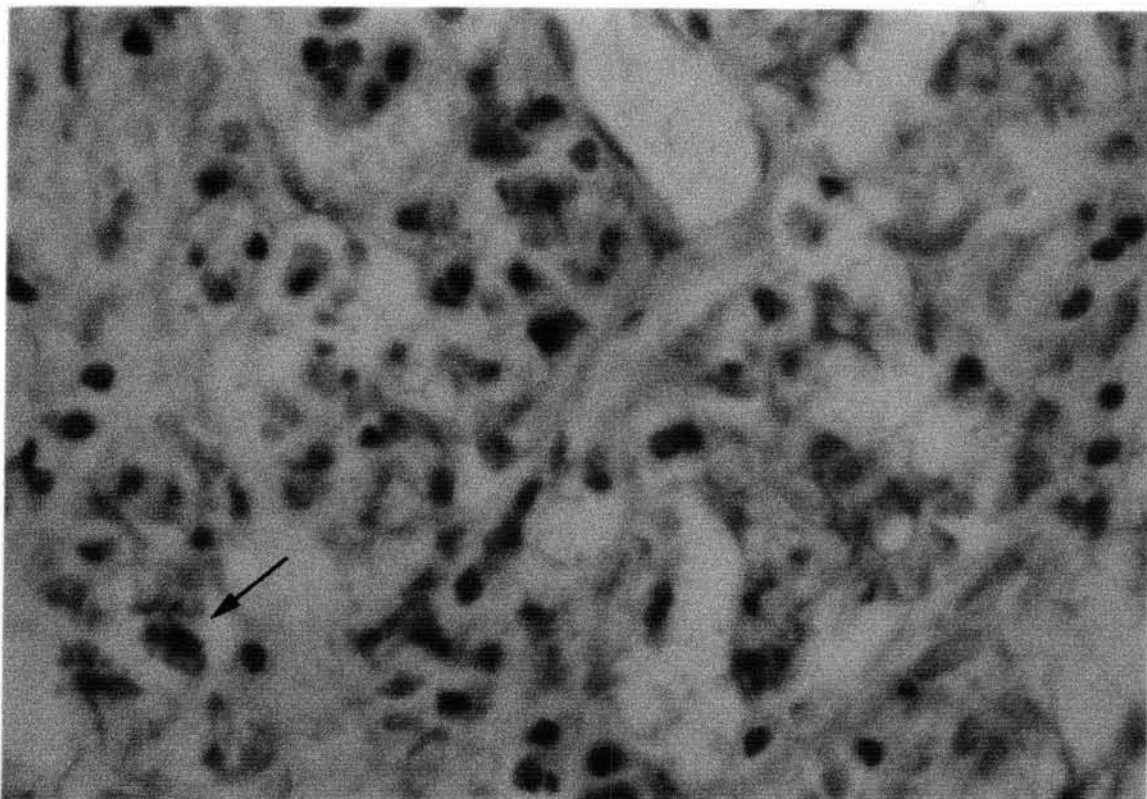
4. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan reagen yang sesuai dengan komponen yang diperiksa.

#### **4.8.3 Perhitungan jumlah masing-masing sel imun (lihat gambar 4.2)**

Dalam perhitungan jumlah sel, maka dilakukan perhitungan jumlah sel per lapangan pandang dengan menggunakan *graticulae* yang dilekatkan mikroskop cahaya pembesaran 400 x, pada setiap preparat hasil pewarnaan imunoperoksidase. Untuk mencapai validitas data maka perhitungan sel dilakukan oleh pengamat 1 dan pengamat 2. Contoh gambar hasil pewarnaan imunoperoksidase terhadap variabel IgG dan limfosit *Thelper CD4<sup>+</sup>* (Gambar 4.2 dan 4.3).



Gambar 4.2 : Komponen respons imun IgG (pembesaran 1000x)



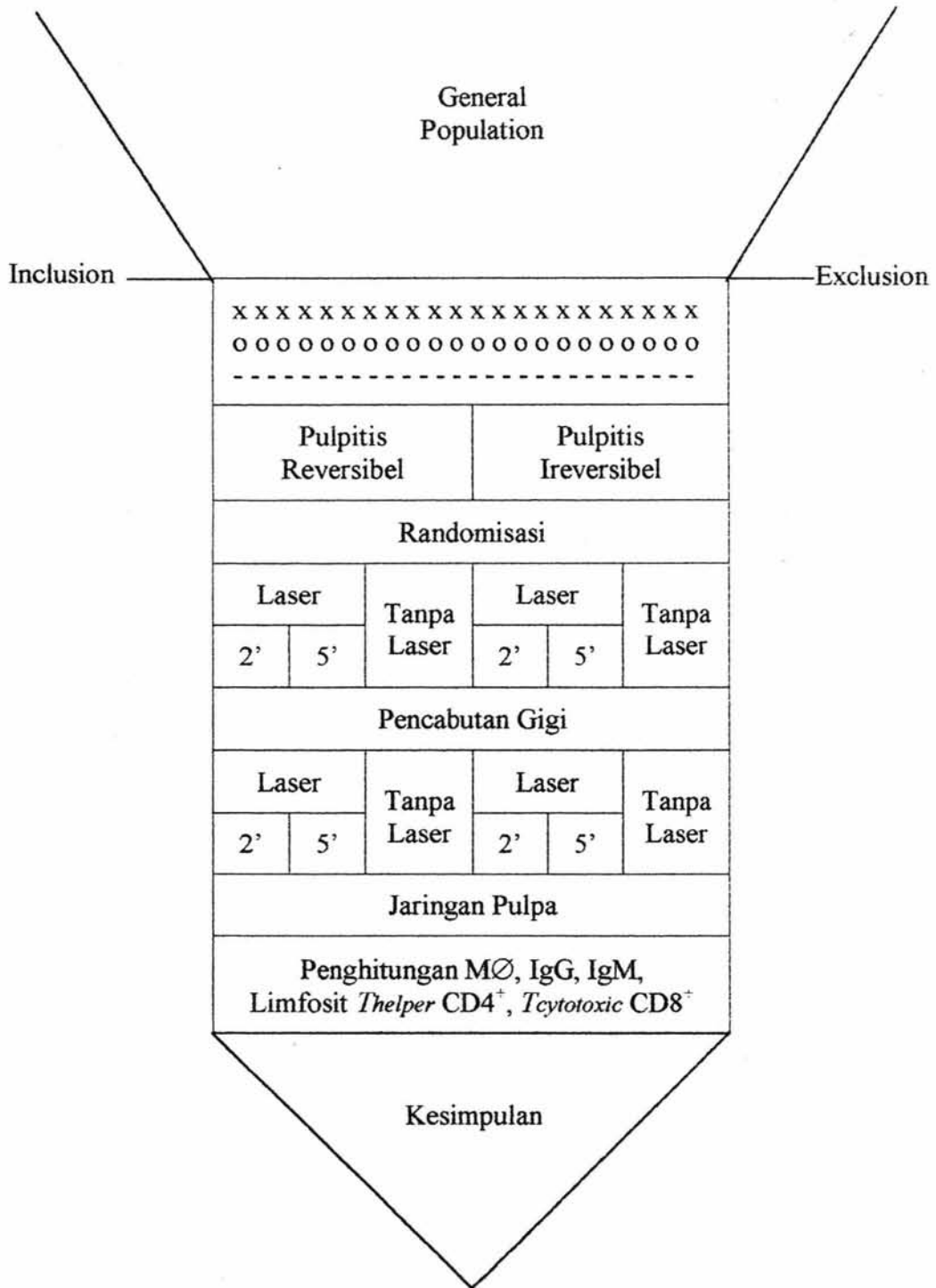
Gambar 4.3 : Komponen respons imun limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup> (pembesaran 400x)

#### 4.8.4 Tahapan Analisis Data

1. Untuk melihat homogenitas sampel, dilakukan analisis terhadap hasil pemeriksaan darah dan urin rutin penderita, dengan uji manova.
2. Uji konsistensi pengamatan, untuk mengetahui apakah tidak ada perbedaan antara hasil pengamatan peneliti (pengamat I) dan *secondary observer* (pengamat II).
3. Uji IIDN yang meliputi *Indipendency*, *Identically* dan *Normality*. Uji ini dilakukan untuk persyaratan dilakukan analisis multivariat (Manova).
4. Uji perbedaan antara kelompok sampel dengan menggunakan uji Manova, untuk melihat adanya perbedaan kelompok pulpitis reversibel tanpa paparan laser, kelompok pulpitis reversibel yang diberi paparan laser 2 menit dan yang diberi paparan laser 5 menit, pulpitis ireversibel tanpa paparan laser, pulpitis ireversibel yang diberi paparan laser 2 menit dan 5 menit.
5. Uji diskriminan untuk menguji variabel respons imun pulpitis yang merupakan variabel pembeda terkuat (diskriminan) dan mendapatkan nilai kontribusi (Koefisien Fisher) yang sangat menentukan perbedaan kelompok sampel.
6. Pembuatan pola respons imun pulpitis dilakukan uji statistik manova, untuk mendapatkan kontribusi berdasarkan satu perangkat variabel yang mempunyai nilai beda besar penafsiran pola berdasar atas kerangka konseptual digunakan untuk mengungkap mekanisme biomodulasi GaAIs terhadap respons imun pulpitis.



4.8.5 Alur Penelitian



**BAB 5****HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS**

Hasil perhitungan jumlah sel yang positif terhadap monoklonal makrofag, IgG, IgM, limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup> dan *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup> dengan menggunakan mikroskop cahaya, maka didapat jumlah setiap variabel respons imun untuk setiap kelompok pulpitis dan lama penyinaran laser (Lampiran 5). Data ini juga dilengkapi dengan umur, jenis kelamin penderita ditambah hasil pemeriksaan darah dan urin rutin penderita. Untuk menyakinkan bahwa semua kelompok anggota sampel diambil dari populasi homogen, dilakukan uji homogenitas terhadap hasil pemeriksaan darah lengkap, urin lengkap, kadar glukosa darah puasa / 2 jam pp, pemeriksaan SGOT dan SGPT. Pemeriksaan tersebut menunjukkan semua nilai hasil pemeriksaan dalam batas normal. Dari uji tersebut menunjukkan bahwa kelompok sampel pulpitis reversibel (Rev) dan pulpitis ireversibel (Irev) berasal dari populasi yang memiliki kondisi yang sama atau homogen dengan nilai Wilks = 0.52835 dengan F signifikan = 0.249 (Lampiran 6).

Untuk menguji ketepatan hasil pengamatan peneliti (pengamat I) terhadap setiap variabel pada kelompok pulpitis reversibel dan pulpitis ireversibel, dilakukan terhadap hasil pengamatan yang dilakukan oleh pengamat kedua (*secondary observer*) (Lampiran 7) serta data rerata dan standar deviasi dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan Tabel 5.2.

**Tabel 5.1. Data Rerata dan Standar Deviasi pengamat I (Peneliti) dan pengamat II kelompok reversibel**

Variabel	Pengamat I		Pengamat II		Signifikan
	Rerata	S D	Rerata	S D	
MØ	5,091	1,973	5,091	1,973	1,000
IgG	3,091	1,446	3,182	1,328	0,879
IgM	5,545	3,503	5,455	3,446	0,952
CD4	7,273	3,552	6,909	3,177	0,803
CD8	10,455	4,229	10,000	3,873	0,795

**Tabel 5.2. Data Rerata dan Standar Deviasi pengamat I (Peneliti) dan pengamat II kelompok ireversibel**

Variabel	Pengamat I		Pengamat II		Signifikan
	Rerata	S D	Rerata	S D	
MØ	11,333	6,461	11,111	6,431	0,943
IgG	8,000	5,657	7,667	5,385	0,900
IgM	6,333	2,500	6,222	2,432	0,925
CD4	18,000	5,362	17,444	5,151	0,825
CD8	14,556	4,558	14,444	4,419	0,959

Hasil menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok pulpitis reversibel terhadap hasil pengamatan antara pengamat I dan pengamat II (Wilks = 0,98829, F signifikan = 0,999) dan juga terhadap kelompok ireversibel (Wilks = 0,98498, F signifikan = 0,999). Dengan demikian hasil pengamatan yang dilakukan oleh peneliti sama dengan hasil pengamatan yang dilakukan oleh pengamat II sehingga untuk selanjutnya data yang dianalisis adalah data hasil pengamatan peneliti (pengamat I).

### 5.1 Hasil Uji Homogenitas Data

Sebagai persyaratan untuk melakukan uji lebih lanjut yaitu analisis multivariat (Ostle, 1963; Afifi, 1990) maka data hasil penelitian harus diuji homogenitasnya dengan menggunakan uji IIDN yang meliputi uji *identically*, *independency* dan

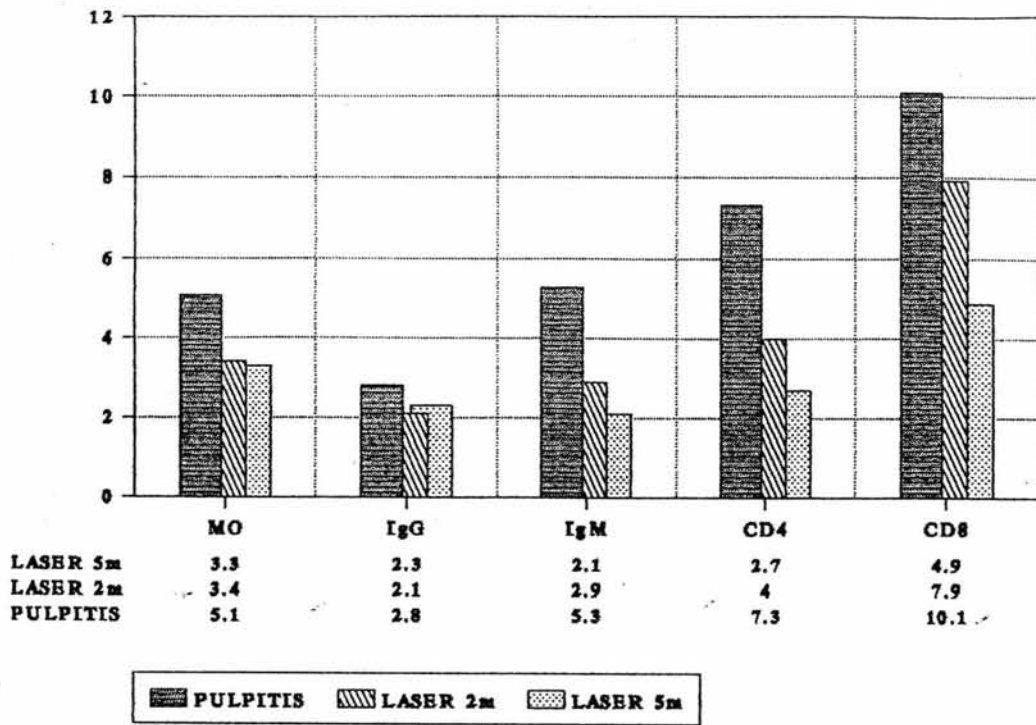
*normality* (Lampiran 8). Hasil analisis menunjukkan bahwa data tersebut memenuhi persyaratan analisis multivariat

## 5.2 Hasil Uji Perbedaan Antar Kelompok Sampel

Data yang telah memenuhi persyaratan tersebut akan dianalisis untuk menguji hipotesis. Dari hasil analisis statistik dengan uji manova didapatkan bahwa antara kelompok kontrol, paparan laser 2 menit, paparan laser 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel didapat nilai Wilks = 0,39548 dan F signifikan = 0,010. Berarti bahwa pada kelompok pulpitis reversibel antara kelompok kontrol, paparan laser 2 menit dan 5 menit ada perbedaan yang bermakna (Tabel 5.3; Gambar 5.1; Lampiran 9).

**Tabel 5.3. Rerata dan standar deviasi kelompok reversibel**

Variabel	Kontrol		Laser 2 menit		Laser 5 menit	
	Rerata	S D	Rerata	S D	Rerata	S D
MØ	5.100	2.079	3.400	1.578	3.300	1.252
IgG	2.800	1.135	2.100	0.994	2.300	1.337
IgM	5.300	3.592	2.900	0.994	2.100	0.994
CD4	7.300	3.743	4.000	1.155	2.700	1.947
CD8	10.100	4.280	7.900	2.132	4.900	3.814

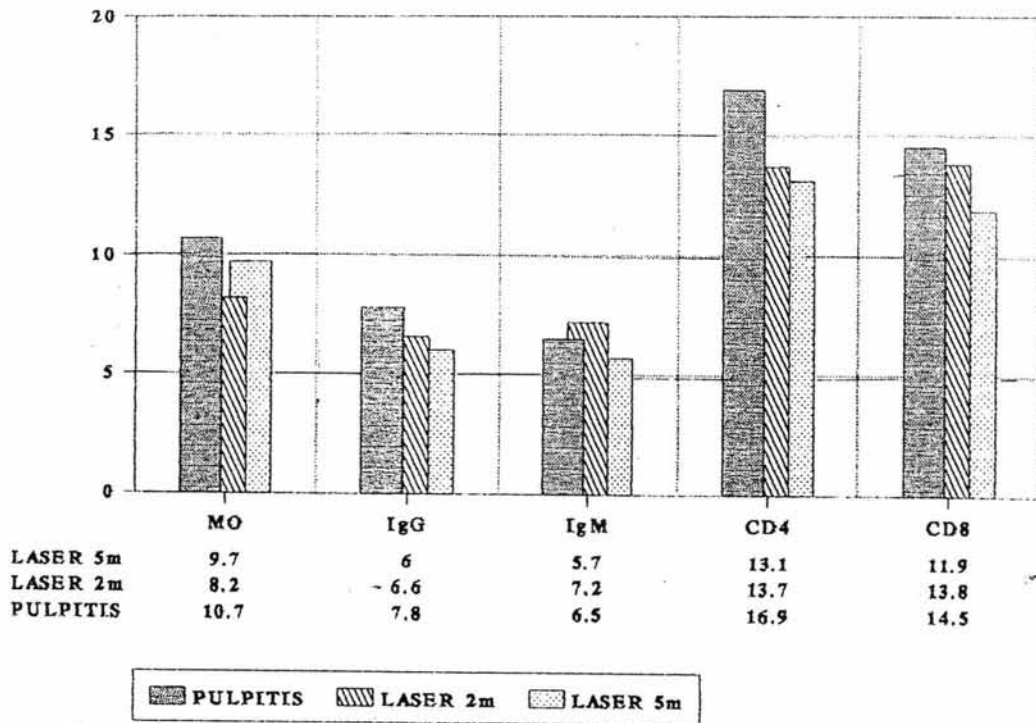


**Gambar 5.1. Grafik Rerata paparan laser 2 menit dan 5 menit pada pulpitis reversibel**

Pada kelompok ireversibel didapat hasil nilai Wilks = 0,69896 dengan F signifikan = 0,539 yang berarti bahwa pada kelompok pulpitis ireversibel tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol, paparan laser 2 menit dan paparan laser 5 menit (Tabel 5.4; Gambar 5.2; Lampiran 10).

**Tabel 5.4. Rerata dan standar deviasi kelompok ireversibel**

Variabel	Kontrol		Laser 2 menit		Laser 5 menit	
	Rerata	S D	Rerata	S D	Rerata	S D
MO	10.700	6.413	8.200	2.974	9.700	6.499
IgG	7.800	5.371	6.600	1.955	6.000	2.108
IgM	6.500	2.415	7.200	3.084	5.700	2.263
CD4	16.900	6.316	13.700	3.917	13.100	5.152
CD8	14.500	4.301	13.800	7.269	11.900	4.383



**Gambar 5.2. Grafik Rerata paparan laser 2 menit dan 5 menit pada pulpitis ireversibel**

Untuk menguji adanya perbedaan antara kelompok kontrol (pulpitis reversibel tanpa paparan laser); pulpitis reversibel dengan paparan laser 2 menit; pulpitis reversibel dengan paparan laser 5 menit; kelompok kontrol (pulpitis ireversibel tanpa paparan laser); pulpitis ireversibel dengan paparan laser 2 menit; pulpitis ireversibel dengan paparan laser 5 menit, dilakukan uji manova.

Uji manova dilakukan untuk melihat efek biomodulasi paparan laser 2 menit dan 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel dan pulpitis ireversibel. Untuk melihat

perbedaan antara kelompok kontrol dan paparan laser 2 menit pada kelompok reversibel dilakukan uji manova dengan hasil nilai Wilks = 0,53513 dengan F signifikan = 0,087 yang berarti antara kelompok kontrol dan paparan laser 2 menit pada kelompok pulpitis reversibel tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (Tabel 5.5; Lampiran 11).

**Tabel 5.5. Uji Manova pada kelompok pulpitis reversibel yang terpapar laser 2 menit**

Var	Kontrol		Laser 2 menit		SIG.
	Rerata	SD	Rerata	SD	
MØ	5,100	2,079	3,400	1,578	0,054
IgG	2,800	1,135	2,100	0,994	0,160
IgM	5,300	3,592	2,900	0,994	0,057
CD4	7,300	3,743	4,000	1,155	0,016
CD8	10,100	7,900	4,280	2,132	0,163

Untuk melihat perbedaan antara kelompok kontrol dan paparan laser 5 menit pada kelompok reversibel dilakukan uji manova dengan hasil nilai Wilks = 0,44725 dengan F signifikan = 0,030. Berarti ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan paparan laser 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel (Tabel 5.6; Lampiran 11).

**Tabel 5.6. Uji Manova pada kelompok pulpitis reversibel yang terpapar laser 5 menit**

Var	Kontrol		Laser 5 menit		SIG.
	Rerata	SD	Rerata	SD	
MØ	5,100	2,079	3,300	1,252	0,031
IgG	2,800	1,135	2,300	1,337	0,379
IgM	5,300	3,592	2,100	0,994	0,014
CD4	7,300	3,743	2,700	1,947	0,003
CD8	10,100	7,900	4,900	3,814	0,010

Untuk melihat perbedaan antara kelompok kontrol dan paparan laser 2 menit pada kelompok ireversibel dilakukan uji manova dengan hasil nilai Wilks = 0,82969 dengan F signifikan = 0,719. Berarti antara kelompok kontrol dan paparan laser 2 menit pada kelompok pulpitis ireversibel tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (Tabel 5.7; Lampiran 11).

**Tabel 5.7. Uji Manova pada kelompok pulpitis ireversibel yang terpapar laser 2 menit**

Var	Kontrol		Laser 2 menit		SIG.
	Rerata	SD	Rerata	SD	
MØ	10,700	6,413	8,200	2,974	0,278
IgG	7,800	5,371	6,600	1,955	0,515
IgM	6,500	2,415	7,200	3,084	0,579
CD4	16,900	6,136	13,700	3,917	0,181
CD8	14,500	4,301	13,800	7,269	0,796

Untuk melihat perbedaan antara kelompok kontrol dan paparan laser 5 menit pada kelompok ireversibel dilakukan uji manova dengan hasil nilai Wilks = 0,75279 dengan F signifikan = 0,497. Berarti antara kelompok kontrol dan paparan laser 5 menit pada kelompok pulpitis ireversibel tidak ada perbedaan yang bermakna (Tabel 5.8; Lampiran 11).

**Tabel 5.8. Uji Manova pada kelompok pulpitis ireversibel yang terpapar laser 5 menit**

Var	Kontrol		Laser 5 menit		SIG.
	Rerata	SD	Rerata	SD	
MØ	10,700	6,413	9,700	6,499	0,733
IgG	7,800	5,371	6,000	2,108	0,337
IgM	6,500	2,415	5,700	2,263	0,455
CD4	16,900	6,136	13,100	5,152	0,151
CD8	14,500	4,301	11,900	4,383	0,197



Hasil analisis di atas menunjukkan hanya paparan laser 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel yang berbeda bermakna, sedangkan kelompok yang lain tidak menunjukkan adanya perbedaan.

### 5.3 Uji Diskriminan Untuk Identifikasi Variabel Pembeda

Untuk melihat variabel apasaja yang dapat membedakan antara kelompok kontrol dengan kelompok paparan laser 5 menit pada pulpitis reversibel dilakukan analisis diskriminan.

Teknik analisis diskriminan digunakan untuk mendapatkan variabel pembeda (diskriminan) dan besaran kontribusi (koefisien Fisher). Variabel dominan dan koefisien Fisher diperoleh dari analisis diskriminan. (Tabel 5.9; Tabel 5.10; Lampiran 12).

**Tabel 5.9. Variabel pembeda yang dominan**

Step	Action Entered	Wilks Lambda	Sig.
1	CD4	0,60226	0,0029
2	MØ	0,50761	0,0031
3	CD8	0,48841	0,0081
4	IgM	0,46303	0,0156
5	IgG	0,44937	0,0127

**Tabel 5.10. Koefisien Fisher**

VAR	KOEFSIEN FISHER	
	Kelompok	
	Kontrol	Laser 5 menit
MØ	1,848357	1,282633
IgG	0,6571689	1,171762
IgM	0,2205112	-0,1670268
CD4	0,0850169	-0,0245018
CD8	0,6387916	0,2649018

Analisis diskriminan tersebut menghasilkan 5 variabel beda yang dominan yaitu *Thelper* CD4<sup>+</sup>, MØ, *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup>, IgM, IgG dengan kekuatan pembeda 85%. Apabila digunakan empat variabel pembeda yaitu MØ, IgG, IgM dan *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup> maka kekuatan pembeda tetap sama yaitu 85%. Untuk alasan ini maka digunakan 5 variabel pembeda dengan kekuatan yang sama yaitu 85%.

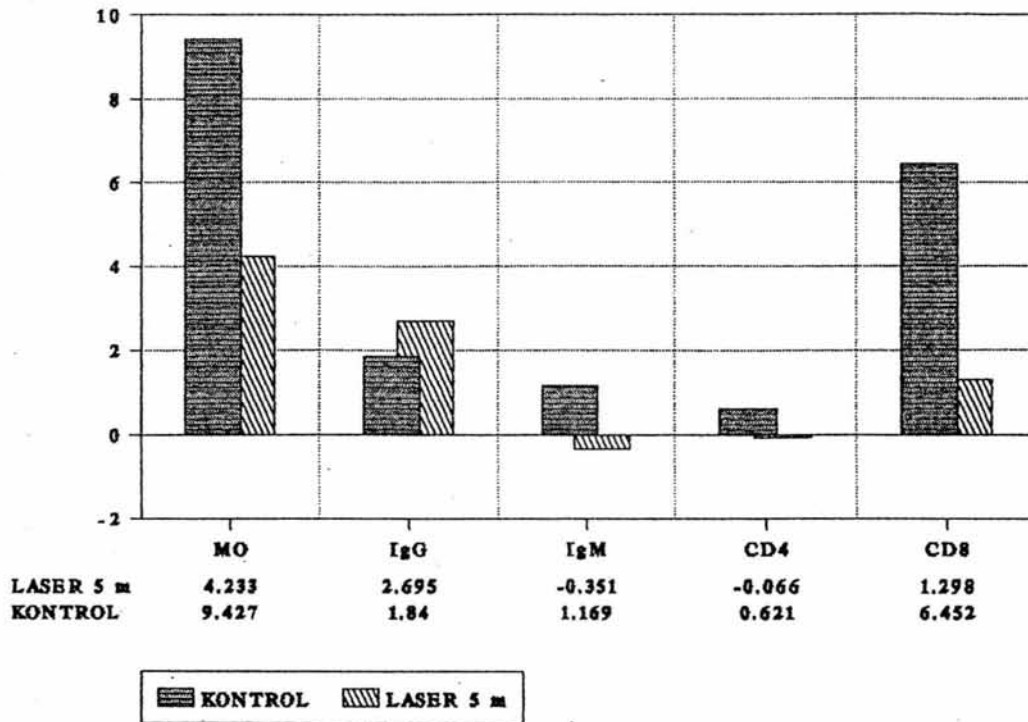
#### 5.4 Pembuatan Pola Patobiologis Respons Imun

Untuk mengungkap mekanisme efek biomodulasi paparan laser 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel dilakukan dengan membentuk pola patobiologis respons imun. Pola ini diperoleh dengan cara mengalikan setiap variabel pembeda yang dominan (diskriminan) dengan besaran kontribusinya (koefisien Fisher) (Tabel 5.11; Lampiran 13).

**Tabel 5.11. Harga kontribusi diskriminan setiap variabel**

Var	Kontrol		Laser 5 menit		SIG.
	Rerata	SD	Rerata	SD	
MØ	9,427	3,843	4,233	1,605	0,001
IgG	1,840	0,746	2,695	1,567	0,137
IgM	1,169	0,792	-0,351	0,166	0,000
CD4+	0,621	0,318	-0,066	0,048	0,000
CD8+	6,452	2,734	1,298	1,010	0,000

Dari analisis tersebut dibuat suatu pola dengan hasil sebagai berikut (gambar 5.3)



**Gambar 5.3. Pola patobiologis respons imun akibat paparan laser 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel**

**BAB 6****PEMBAHASAN**

Penelitian ini ditujukan untuk mengungkap biomodulasi laser GaAlAs terhadap respons imun pulpitis. Pengungkapan pengaruh laser terhadap jaringan pulpa diperlukan karena saat ini terjadi peningkatan penggunaan laser yang efek biologisnya belum diketahui secara jelas. Seperti halnya pada penggunaan sinar radiasi yang baru diketahui sebagai immunosupresan setelah digunakan secara luas, maka dikhawatirkan penggunaan sinar laser mempunyai nasib yang sama.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan di klinik (*clinical trial*) dengan desain *experimental randomized post control*. Penelitian dilakukan pada manusia, bukan pada hewan coba dengan alasan antara lain : pertama, pada saat ini penentuan diagnosis klinis pulpitis masih berdasarkan atas konsep patofisiologis yaitu analisis terhadap gejala dan hasil pemeriksaan klinis (*sign and symptom*). Salah satu penentu gejala subyektif yaitu timbulnya rasa nyeri yang berupa rasa ngilu atau rasa sakit spontan. Tanda subyektif ini tentu tidak dapat diperoleh bila dalam penelitian, sampel diambil dari hewan coba. Kedua, ruang pulpa gigi manusia lebih luas bila dibandingkan dengan hewan coba, sehingga memudahkan mengempirikasi variabel. Ketiga, selama ini laser telah banyak digunakan untuk penatalaksanaan perawatan dalam bidang kesehatan dan telah diaplikasi penggunaannya pada manusia, termasuk laser GaAlAs untuk penyembuhan (Kert,1989). Penggunaan *post design* bukan *pre-post design* karena untuk mengetahui efek laser *pre design* tidak dapat dilakukan sehubungan bahwa

empirifikasi variabel perlu pencabutan gigi dan dibelah untuk mengambil jaringan pulpanya.

Mengingat penggunaan laser GaAlAs di klinik saat ini untuk indikasi pulpitis adalah 2 menit dan penyembuhan tendon adalah 5 menit maka dalam variabel bebas penelitian ini digunakan paparan laser 2 menit dan 5 menit. Untuk mengetahui efek biomodulasi pada paparan laser 2 menit dan 5 menit pada 2 kelompok pulpitis reversibel dan ireversibel maka penelitian ini dirancang dalam 6 kelompok yaitu : kelompok perlakuan terdiri dari pulpitis reversibel yang dipapar laser GaAlAs 2 menit, pulpitis reversibel yang dipapar laser 5 menit dan pulpitis ireversibel yang dipapar laser 2 menit, pulpitis ireversibel yang dipapar laser 5 menit; serta kelompok kontrol terdiri dari pulpitis reversibel dan pulpitis ireversibel tanpa paparan laser GaAlAs.

Penyinaran laser dimungkinkan terkontrol sampai mencapai jaringan pulpa karena pada penelitian ini digunakan sampel pulpitis ireversibel yang pulpanya telah terbuka sehingga laser dapat berkontak langsung . Sedangkan pada pulpitis reversibel digunakan sampel yang mengalami karies profunda maksimal 1 mm dari atap pulpa. Pada jenis pulpitis ini, sinar laser akan menembus jaringan pulpa melalui cerobong tu buli dentin yang diameternya lebih melebar bila terletak mendekati servikal gigi. Pengendalian lain dalam hal masuknya sinar laser yaitu pada penelitian ini digunakan sampel gigi yang berakar tunggal. Diharapkan dengan penyinaran laser yang lurus searah sumbu akar gigi maka sinar akan langsung mengarah pada jaringan pulpa gigi.

Kedua jenis kelamin yaitu laki-laki dan perempuan dimasukkan dalam pengambilan sampel karena keterbatasan jumlah gigi 13, 12, 11, 21, 22, 23, 45, 44,

43, 33, 34, 35 dengan karies primer pada permukaan labial atau oklusal yang termasuk karies media atau profunda dengan diagnostis klinik pulpitis reversibel atau ireversibel dan diindikasikan untuk pencabutan. Sedangkan kriteria umur 17 tahun dimaksudkan karena pada umur tersebut telah terjadi kestabilan perkembangan (Stites,1997). Umur 40 tahun sebagai batas maksimal pengambilan sampel karena umumnya kesehatan tubuh akan menurun setelah batas umur tersebut.

Suatu paradigma (model berpikir) diperlukan dalam upaya memberikan solusi masalah penelitian. Paradigma patobiologis pada hakekatnya merupakan model berpikir untuk menalar segala perubahan biologis yang merugikan yang terjadi karena tubuh berinteraksi dengan lingkungan yang merusak (Putra, 1994). Penerapan paradigma memerlukan suatu kerangka pikir atau konsep sehingga indikator yang ditetapkan merupakan cerminan suatu pemahaman yang digunakan dan diharapkan dapat untuk menajamkan hasil penelitian. Dengan demikian pada penelitian ini digunakan pendekatan patobiologis berkonsep *stress immunocompetent cell*. Sinar laser merupakan *stressor* karena mengeluarkan *stress wave* yang menimbulkan stres respons imun pada pulpa seperti yang terlihat pada kerangka konsep. *Stress wave* menyebabkan makrofag mengalami stres di pulpa, sehingga sintesis IL-1 meningkat. Selanjutnya peningkatan IL-1 tersebut akan memodulasi perilaku limfosit *Thelper* sebagai limfosit *Th-1* dan *Th-2*. Perubahan perilaku limfosit *Thelper* tersebut dicerminkan oleh perubahan *cytokine* profile (IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10) yang akan memodulasi efektor respons imun. Paradigma dan konsep penelitian ini digunakan untuk menjelaskan adanya interaksi dan transaksi antara *stress wave* sebagai *stressor*

terhadap sel imunokompeten yang mengalami stres. *Stress cell* akan mengalami perubahan perilaku yaitu adanya peningkatan *stress signaling substance* yang memodulasi sel imunokompeten lainnya, yang pada hakekatnya memodulasi respons imun akibat sel imunokompeten mengalami *stress* dalam suatu sistem imun pulpa sehingga fungsi sistem imun mengalami modulasi. Secara konseptual hal ini sesuai dengan konsep psikoneuroimunologi (Putra, 1999).

Variabel dalam penelitian ini (makrofag, IgG, IgM, limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup>, *Thelper* CD8<sup>+</sup>) untuk mencerminkan paradigma patobiologis berkonsep *stress immunocompetent cell* dan variabel tersebut diempirikan dengan menggunakan pemeriksaan imunoperoxidase (konsep morfofungsi) (Putra, 1990). Untuk mengungkap mekanisme efek biomodulasi paparan laser perlu suatu pola. Bentuk interaksi berbagai variabel tersebut digambarkan sebagai pola, sehingga data yang didapat dari hasil penelitian dianalisis dengan uji multivariat. Pola patobiologis sistem imun yang mengalami stres pada hakekatnya merupakan pencerminan interaksi antara fungsi semua komponen yang terlibat dalam sistem imun yang mengalami stres tersebut dalam menjalankan fungsi biologisnya. Dengan demikian pola ini tidak cukup dicerminkan secara langsung dari harga rerata setiap komponen respons imun, mengingat nilai setiap komponen tersebut belum mencerminkan interaksi biologis (kontribusi setiap variabel dalam menjalankan aktivitas biologis) yang terjadi. Pola terbentuk atas nilai variabel yang telah dikalikan dengan koefisien Fisher yang mencerminkan kontribusi dari berbagai macam variabel terhadap mekanisme biologis yang terjadi. Harga kontribusi setiap komponen variabel yang digunakan untuk membuat pola dihasilkan dengan melakukan uji diskriminan.

Modulasi sistem imun yang terjadi pada setiap variabel komponen sistem imun, diduga merupakan *General Adaptation Syndrome (GAS)* Bentuk imunitas humoral dan seluler merupakan bentuk respons imun adaptif (adaptasi atau kegagalan adaptasi respons imun terhadap paparan laser). Modulasi tersebut berupa respons imun yang dicerminkan oleh *GAS* melalui tingkatan : (1) *Alarm stage* (2) *Resistance adaptation stage* dan (3) *Exhaustion stage* (McCance,1994). Pada penelitian ini dilakukan uji manova terhadap data pada kelompok pulpitis reversibel maupun pulpitis ireversibel yang terpapar laser 2 menit, 5 menit dan yang tanpa paparan. Hasil uji tersebut menunjukkan efek biomodulasi laser GaAlAs yang berbeda terjadi pada kelompok pulpitis reversibel yang terpapar laser 5 menit (Tabel 6, Gambar 3). Paparan laser GaAlAs tidak memberikan efek biomodulasi yang bermakna pada kelompok pulpitis ireversibel, keadaan ini kemungkinan disebabkan sel imunokompeten pada pulpitis ireversibel telah mengalami *exhaustion stage* terhadap penyebab pulpitis sehingga tidak dapat memberikan efek biomodulasi yang nyata.

Efek biomodulasi yang terjadi pada kelompok pulpitis reversibel yaitu akibat paparan laser GaAlAs 5 menit. Hal ini dimungkinkan karena paparan laser GaAlAs selama 5 menit memberikan waktu paparan yang cukup lama terhadap sel imunokompeten pulpitis reversibel sehingga mencapai *adaptive stage*, dengan demikian memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun reversibel yang bermakna walaupun mengalami penurunan respons imun.

Paparan laser GaAlAs 2 menit tidak memberikan efek biomodulasi pada respons imun pulpitis reversibel kemungkinan karena paparan laser 2 menit sebagai *stressor* bagi sel imunokompeten termodulasi sampai *alarm stage* sehingga efek



biomodulasi terhadap respons imun pulpitis reversibel tidak berbeda secara bermakna. Keadaan ini dapat dilihat dengan adanya perbedaan rerata setiap variabel antara kelompok kontrol dengan kelompok yang terpapar laser.

Efek biomodulasi paparan laser GaAlAs 5 menit pada kelompok pulpitis reversibel berupa penurunan makrofag, yang diikuti dengan penurunan jumlah limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup>, *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup>, IgM dan peningkatan IgG. Mekanisme terjadinya biomodulasi tercermin pada penurunan aktivitas biologis seperti yang tampak pada pola patobiologis sistem imun pulpitis reversibel yang mengalami stres yaitu adanya penurunan jumlah makrofag (9,427 → 4,233) menyebabkan penurunan limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup> (0,261 → -0,066) selanjutnya penurunan *Tcytotoxic* CD8<sup>+</sup> (6,452 → 1,298) pada jalur respons imun seluler. Penurunan limfosit *Thelper* CD4<sup>+</sup> juga mengakibatkan penurunan IgM (1,169 → -0,351) pada jalur respons imun humoral (Gambar 3). Kenyataan ini menunjukkan bahwa paparan laser akan memodulasi respons imun seluler dan humoral. Modulasi respons imun seluler terutama ditunjukkan dengan peran penurunan makrofag akibat *stressor* sehingga IL-1 yang dihasilkan menyebabkan limfosit *Th-1* mengeluarkan sitokin yaitu IL-2 dan IFN- $\gamma$  sehingga menyebabkan penurunan *Tcytotoxic*. Pada jalur repons imun humoral makrofag yang menerima *stressor* akan memodulasi limfosit *Th-2* sehingga mengeluarkan sitokin yaitu IL-4 dan IL-10 untuk memodulasi sel B yang merangsang maturasi sel plasma untuk mengeluarkan imunoglobulin, dalam penelitian ini terjadi penurunan IgM. Penurunan jumlah IgM yang disertai peningkatan IgG (1,840 → 2,695) kemungkinan karena kompensasi sel imunokompeten yaitu secara akomodasi

maturasi IgM menjadi IgG. Selain itu penurunan IgM kemungkinan disebabkan menurunnya jumlah IFN- $\gamma$  yang dihasilkan oleh limfosit *Th-1* untuk memicu pembentukan IgM tersebut. Peningkatan IgG tersebut meningkatkan peran pada proses opsonisasi yang diperlukan untuk meningkatkan fagositosis sehingga mempercepat penyembuhan.

Pada pulpitis reversibel terjadi reaksi biologis yang mencerminkan interaksi dan transaksi berbagai variabel respons imun akibat *stressor*. Reaksi biologis tersebut menggambarkan keadaan *homeostasis* yang dinamis seperti tingkatan *GAS* yang dikemukakan oleh Selye. Dengan demikian besar dan lama paparan *stressor* menentukan modulasi respons imun seperti halnya yang tercermin diantara tiga tingkatan perkembangan *GAS*. Modulasi respons imun pulpitis reversibel dimungkinkan karena sel pada kelompok paparan laser 5 menit pulpitis reversibel adalah sel imunokompeten seperti makrofag, limfosit *Thelper CD4<sup>+</sup>*, *Tcytotoxic CD8<sup>+</sup>*, sel B, sel plasma, maka sistem imun ikut merasakan efek stres tersebut. Bila sistem imun mengalami stres maka fungsi sistem tersebut akan mengalami modulasi.

Walaupun pada perkembangan awal penggunaan laser ditujukan untuk mengurangi rasa nyeri namun berbagai penelitian tentang perubahan biologis inflamasi dan perubahan yang berkaitan dengan rasa nyeri atau perubahan sistem imun belum dilaporkan. Mengingat penurunan respons imun akibat paparan laser perlu segera diungkap sehubungan dengan bahaya terhadap kerentanan infeksi maka pada penelitian ini belum dilakukan pengukuran jumlah endorfin yang digunakan sebagai indikator rasa nyeri. Apabila jumlah endorfin setelah paparan laser GaAlAs 2

menit dan 5 menit sama, maka pada pulpitis reversibel lebih baik dipapar laser 2 menit karena paparan laser 5 menit ada kecenderungan menurunkan respons imun, yang berarti paparan laser hanya ditujukan untuk mengurangi rasa nyeri, tanpa menurunkan respons imun. Apabila jumlah endorfin menurun pada paparan laser 5 menit kelompok pulpitis ireversibel maka pada pulpitis ireversibel lebih baik digunakan paparan laser 5 menit karena paparan laser 2 menit maupun 5 menit tidak memberikan efek biomodulasi, sehingga paparan laser hanya bertujuan menurunkan rasa nyeri.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

1. Paparan laser GaAlAs 5 menit memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun pulpitis reversibel.
2. Paparan laser GaAlAs 2 menit dan 5 menit tidak memberikan efek biomodulasi terhadap respons imun pulpitis ireversibel.
3. Paparan laser GaAlAs 5 menit memberikan variasi kualitas respons imun pada pulpitis reversibel.
4. Suatu pendekatan patobiologik berkonsep *stress immunocompetent cell* secara konseptual sama dengan paradigma psikoneuroimunologi.

#### 7.2 Saran

1. Untuk mendapatkan penggunaan laser GaAlAs selama 5 menit perlu dirancang model laser dengan *adjustable timer* 5 menit agar penyinaran 5 menit berlangsung terus menerus tidak terputus
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang melibatkan subset limfosit *Thelper-1* dan *Thelper-2*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap perubahan sitokin dan endorfin terhadap setiap sel imunokompeten yang terpapar laser.

4. Apabila endorfin akibat paparan laser 2 menit dan 5 menit sama maka dianjurkan untuk menggunakan paparan laser 2 menit pada pulpitis reversibel. Bila ada perbedaan perubahan endorfin pada paparan laser 2 menit dan 5 menit maka digunakan paparan laser 5 menit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichman AH, Pober JS, 1994. **Cellular and Molecular Immunology**. 2<sup>nd</sup> edition, Philadelphia: Saunders Co, pp 188-233.
- Afifi AA, Clark V, 1990. **Computer-aided Multivariate Analysis**. 2<sup>nd</sup> edition, New York: Van Nostrand Reinhold Company, pp 271-427.
- Ader R, Felten DL, Cohen N, 1991. **Psychoneuroimmunology**, 2<sup>nd</sup> edition, California: Academic Press, pp 3-11.
- Alberts, Brag D, Lewis J, Roff M, Robert K, Watson JD, 1989. **Molecular Biology of the Cell**. 2<sup>nd</sup> edition, Publish Co, London, pp 1048.
- Ashkenazi A and Dixit VM, 1998. Death Receptors: Signaling and Modulation. **Science** 281: 1305-8.
- Baratawidjaja KG, 1991. **Imunologi Dasar**. edisi ke 2, Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hlm 3-58.
- Baxter GD, 1994. **Therapeutic Lasers Theory and Practice**. Edinburg: Churchill Livingstone, pp 1-187.
- Bednarska K, Rozga B, Kolodziejczyk K, Szosland D, Leyko W, et al., 1998. Effect of Low-Power Red Light Laser Irradiation on The Viability of Human Skin Fibroblast. **Radiat Environ Biophys** 37(3): 215-217.
- Bergenholtz G, 1990. Pathogenic Mechanism in Pulpal Disease. **J Endod** 16(2): 98-101.
- Bjorksten B, Holt BJ, Baron-Hay MJ, Munir AK, Holt PG, 1996. Low-level exposure to house dust mites stimulates T-cell responses during early childhood independent of atopy. **Clin Exp Allergy** 26(7):775-9.
- Bottomly K, 1999. T Cells and Dendritic Cells Get Intimate. **Science** 283(5405): 1124.
- Bouma MG, Buurman WA, van den Wildenberg FA, 1996. Low energy laser irradiation fails to modulate the inflammatory function of human monocytes and endothelial cells. **Lasers Surg Med** 19(2): 207-15.
- Brannstrom M, 1981. **Dentin and Pulp in Restorative Dentistry**. London: Wolfe Medical Publications Ltd., pp 1-119.
- Braverman B, Mc Charty RJ, Ivankovich AD, Forde DE, Overfield M, et al., 1989. Effect of Helium-Neon and Infra Red Laser Irradiation on Wound Healing in Rabbit. **Lasers Surg Med** 9(1): 50-8
- Brumer P and Shaapiro M, 1995. Laser Control of Chemical Reactions. **Scientific American** March 1995: 56.
- Burns T, Wilson M, Pearson GJ, 1994. Killing of Cariogenic Bacteri by Light From a Gallium Aluminium Arsenic Diode Laser. **J Dent** 22(5): 273-8.
- Cannon JG, 1996. **Exercise and the Acute Phase Response**. In: Exercise and Immune Function (L Hoffman-Goetz ed.). CRC Press Inc. USA. Pp 39-54.
- Cohen S and Burns RC, 1994. **Pathways of The Pulp**. 6<sup>th</sup> edition, St. Louis: Mosby Year Book Inc., pp 27-434.

- Dong L, Yuan D, Fan L, Su L, Fu Z, 1996. [Effect of He-Ne laser acupuncture on the spleen in rats]. **Chen Tzu Yen Chiu**, 21(4): 64-7.
- Doukas AG, McAuliffe DJ, Lee S, Venugopalan V, Flotte TJ; 1995. Physical Factors Involved in Stress-Wave-Induced Cell Injury : The Effect of Stress Gradient. **Ultrasound Med Biol** 21(7): 961-7.
- Doukas AG and Flotte TJ, 1996. Physical Characteristics and Biological Effects of Laser-Induced Stress Wave. **Ultra-sound Med Biol** 22(2): 151-164.
- Funk JO, Kruse A, Kirchner H, 1992. Cytokine Production After Helium-Neon Laser Irradiation in Cultures of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. **J Photochem Photobiol B: Biol** 16(3-4): 347-55.
- Funk JO, Kruse A, Neustock P, Kirchner H, 1993. Helium-neon laser irradiation induces effects on cytokine production at the protein and the mRNA level. **Exp Dermatol** 2(2): 75-83.
- Galleti G, 1993. **Low Power Laser, An Overview**. Roma: Center of Laser Research and Development, Institute of Experimental Surgery, University of Bologna, pp 605.
- Giavelli S, Fava G, Castronuovo G, Spinoglio L, Galanti A, 1998. [Low-level laser therapy in osteoarticular diseases in geriatric patients]. **Radiol Med (Torino)** 95(4): 303-9.
- Girard PR and Nerem RM, 1993. Endothelial Cell Signaling and Cytoskeletal Changes in Response to Shear Stress. **Front Med Biol Eng** 5(1): 31-6.
- Girard D, Paquin R, Beaulieu AD, 1997. Responsiveness of Human Neutrophils to Interleukin-4: Induction of Cyto-skeletal Rearrangements. De Novo Protein Synthesis and Delay of Apoptosis. **Biochem J** 325(Pt 1): 147-53.
- Greco M, Guida G, Perlino E, Marra E, Quagliariello E, 1989. Increase in RNA and protein synthesis by mitochondria irradiated with helium-neon laser. **Biochem Biophys Res Commun** 163(3): 1428-34.
- Grossman LI, Oliet S, Delrio CE, 1988. **Endodontics Practice**. 11<sup>th</sup> edition, Philadelphia: Lea & Febiger, pp 63-70.
- Hahn CL and Falkler WW, 1992. Antibodies in Normal and Diseased Pulps Reactive With Microorganisms Isolated from Deep Caries. **J Endod** 18: 28.
- Harty FJ, 1990. **Endodontics in Clinical Practice**. 3<sup>rd</sup> edition, London: Wright, pp 55-62.
- Hashieh IA, Tardieu C, Franquin JC, 1997. Helium-neon laser irradiation is not a stressful treatment: a study on heat-shock protein (HSP70) level. **Lasers Surg Med** 20(4): 451-60.
- Hill RB and Lavi MF, 1980. **Principles of Pathobiology**. 3<sup>rd</sup> edition, Oxford: Oxford University Printing, pp 21-187.
- Hokama Y and Nakamura, RM, 1982. **Immunology and Immunopathology**. 1<sup>st</sup> edition, Boston: Little, Brown & Co., pp 457-489.
- Honmura A, Ishii A, Yanase M, Obata J, Haruki E, 1993. Analgesic effect of GaAlAs diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin induces inflammation. **Lasers Surg Med** 13(4): 463-9.

- Hrnjak M, Kuljic-Kapulica N, Budisin A, Giser A, 1995. Stimulatory effect of low-power density He-Ne laser radiation on human fibroblasts in vitro. **Vojnosanit Pregl** 52(6): 539-46.
- Ivaniuta OM, Chenushenko EF, Dzubluk A, 1991. Effect of Low Energy Laser Irradiation of Bronchial Mucosa on Systemic and Local Immunity in Patient With Chronic Bronchitis. **Probl-Turberk** 6: 126.
- Kaplan HI and Sadock BJ, 1995. **Comprehensive textbook of psychiatry**/VI. 6<sup>th</sup> edition. Baltimore: Williams & Wilkins, pp 104-105, 112-116.
- Karu TI, 1987. Photobiological Fundamentals of Low-Power Laser Therapy. **J Quantum Elect**; QE23(10): 13-19.
- Karu T, 1998. Basics of the action of monochromatic visible and near IR (laser) radiation on cells. **Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Conference on Bioelectro-magnetism**. Melbourne: Monash University, pp 125-6.
- Kasymov AL and Khakimov VA, 1997. [Influence of regional lymphoimmunostimulation and infra-red magnetolaser therapy on structure of lymph nodes of lesser omentum after gastric surgery]. **Khirurgiia (Mosk)** (6): 37-40.
- Kert and Rose L, 1989. **Clinical Laser Therapy Low Level Laser Therapy**. Denmark: Scandinavian Medical Laser Technology, pp 5-119.
- Klein J, 1990. **Immunology**. 1<sup>st</sup> edition, Blackwell Scientific Publication, Inc. pp 289-411.
- Kolarova H, Ditrichova D, Smolan S, 1991. Effect of He-Ne Laser Irradiation on Phagocytic Activity of Leucocyte in Vitro. **Acta Univ-Palacki-Olomuc Fac-Med**; 129-127.
- Kolesnikova AI, Kubasova T, Konoplyannikov AG, K"oteles GJ, 1998. Cellular Alterations Upon IR-Laser (890 nm) Exposures, in Vivo. **Pathol Oncol Res**, 4(1): 22-26.
- Lee S, Anderson T, Zhang H, Flotte TJ, Doukas AG, 1996. Alteration of Cell membrane by Stress Waves in Vitro. **Ultrasound Med Biol** 22(9): 1285-1293.
- Lee S, McAuliffe DJ, Zhang H, Xu Z, Taitelbaum J, et al., 1997. Stress-Wave-Induced Membrane Permeation of Red Blood Cells is Facilitated by Aquaporins. **Ultrasound Med Biol** 23(7): 1089-1094.
- Lengyel BA, 1971. **Lasers**. 2<sup>nd</sup> edition, New York: Wiley Interscience, pp 45-48.
- Lengyel BA, 1986. **Lasers**. 2<sup>nd</sup> edition, New York: Wiley Interscience, pp 203-204.
- Ludwig HC, Baner C, Behnke J, 1994. Immunohistochemical an electromicroscopic Effect of a New 2.11 Microns Ho: YAG Laser on the Rat Brain. **Ann Acad Singapore** 23: 21-6.
- Lyon RF, Abbergel R, White RA, 1987. Biostimulation of Wound Healing in Vivo by Helium-Neon Laser. **J Ann Plast Surg** 18: 47.
- McAuliffe DJ, Lee S, Flotte TJ, Doukas AG, 1997. Stress-Wave-Assited Transport Through The Plasma Membrane in Vitro. **Lasers Surg Med** 20(2): 216-222.
- McCance KL and Huether SE, 1994. **Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children**. St. Louis: Mosby Year Book Inc., pp 299-304.
- Mester E, Mester AF, Mester A, 1985. The Biomedical Effects of Laser Application. **Lasers Surg Med** 5(1): 31-9.



- Miserendino LJ and Pick MR, 1997. **Lasers in Dentistry**. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc., pp 299-319.
- Noble PB, Shields ED, Blecher PD, Bentley KC, 1992. Locomotory Characteristics of Fibroblast Within a Three Dimensional Collagen Lattice: Modulation by Helium/ Neon Soft Laser. **Lasers Surg Med** 12(6): 669-74.
- Ohta A, Abergel RP, Uitto J, 1987. Laser Modulation of Human Immune System: Inhibition of Lymphocyte Proliferation by a Gallium-Arsenide Laser at Low Energy. **Lasers Surg Med** 7(2): 199-201.
- Ostle B, 1963. **Statistic in Research**. 2<sup>nd</sup> Edition, Amen: The Iowa State University Press, pp 553.
- Ozawa Y, Shimizu N, Abiko Y, 1997. Low-energy diode laser irradiation reduced plasminogen activator activity in human periodontal ligament cells. **Lasers Surg Med** 21(5): 456-63.
- Panerai AE, Sacerdote P, Bianchi M, Manfredi B, 1997. Intermittent but not continuous inescapable footshock stress and intracerebroventricular interleukin-1 similarly affect immune responses and immunocyte beta-endorphin concentrations in the rat. **Int J Clin Pharmacol Res** 17(2-3): 115-6.
- Passarella S, Casamassima E, Quagliariello E, Careto G, Jirillo E, 1985. **Biochem Biophys Res Commun** 130(2): 546-52.
- Paul WE, 1993. Infectious Disease and The Immune System. **Scientific American** September 1993, pp 91-7.
- Pekovic D and Fillary ED, 1984. Identification of Bacteria in immunopathologic Mechanisme of Human Dental Pulp. **Oral Surg Oral Pathol** 57: 652.
- Pickering JW, 1992. Optical Property Change As a Result of Protein Denature in Albumen and Tolk. **J Photochem Photobiol B** 16: 101.
- Pinheiro AL, Cavalcanti ET, Pinheiro TI, Alves MJ, Miranda ER, et al., 1998. Low-level laser therapy is an important tool to treat disorders of the maxillofacial region. **J Clin Laser Med Surg** 16(4): 223-6.
- Pogrel MA, Chen JW, Zhang K, 1997. Effects of Low-Energy Gallium-Aluminum-Arsenide Laser Irradiation on Cultured Fibroblast and Keratinocytes. **Lasers Surg Med** 20(4): 426-432.
- Polak JM and Van Noorden S, 1986. **Immunocyto Chemistry, Modern Methods and Applications**. 2<sup>nd</sup> edition, Bristol: John Wright & Sons Ltd., pp 1-98.
- Pourreau-Schneider N, Ahmed A, Soudry M, Jacquemier J, Kopp F, et al., 1990. Helium-neon laser treatment transforms fibroblast into myofibroblasts. **Am J Pathol** 137(1): 171-8.
- Prajitno M, 1993. **Pengaruh Tumpatan Amalgam Terhadap Perubahan Respons Imun Jaringan Gusi**. Surabaya: Disertasi Universitas Airlangga, hlm 32-96.
- Pudjirahardjo WJ, Poernomo H, Machfoed MH, 1993. **Metode Penelitian dan Statistik Terapan**. Surabaya: Airlangga University Press, hlm 57-58.
- Putra ST, 1991. Stress dan Immune Surveillance, Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi. **Penyegar Ilmu** 3(3): 177-181.
- Putra ST, 1992. **Dasar Imunoptologik dan Perkembangannya Naskah Ceramah Ilmiah**. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

- Putra ST, Soewandojo E, 1997. **Patofisiologi Kedokteran**. Surabaya: Gramik FK Unair, hlm 1-17.
- Putra ST, 1999. Development of psychoneuroimmunological concept. **Folia Medica Indonesiana** No. 1.
- Reale M, Orso C, Castellani ML, Barbacane RC, Placido FC, et al., 1997. Infra-Red Laser Irradiation Enhances Interleukin-1 Receptor Antagonist, Increases 3H-thymidine Incorporation and The Release of [3H]arachidonic Acid in Human Monocytes. **Mol Cell Biochem** 169(1-2): 51-59.
- Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS, 1998. Laser Photostimulation of Collagen Production in Healing Rabbit Achilles Tendons. **Lasers Surg Med** 22(5): 281-287.
- Rensburg BGJ, 1995. **Oral Biology**. Moscow: Quintessence Publishing Co. Inc., pp 19-321.
- Riley V, 1981. Psychoneuroendocrine Influences on Immunocompetence and Neoplasia. **Science** 212: 1100-9.
- Saputra K, 1997. Efek Biologi Laser. **Materi Pelatihan Akupunktur Laser**, Surabaya: Puslitbang Yankes Depkes RI.
- Seltzer S, 1988, **Endontology, Biologic Considerations in Endodontic Procedures**. 2<sup>nd</sup> edition, Philadelphia: Lea & Febriger, pp 326-482.
- Sigal LH and Ron Y, 1994. **Immunology and Inflammation. Basic mechanisms and clinical consequences**. New York: McGraw Hill Inc., pp 359-74.
- Skinner SM, Gage JP, Wilce PA, Shaw RM, 1996. A Preliminary Study of The Effects of Laser Radiation on Collagen metabolism in Cell Culture. **Aust Dent J** 41(3): 188-192.
- Smulson MH, 1984. Classification and Diagnosis of Pulpa Pathoses. **Dent Clin North Am** 28 : 699.
- Soudry M, Franquin JC, Pourreau-Schreider N, Martin PM, 1988. [Effect of a helium-neon laser on cellular growth: an in vitro study of human gingival fibroblast]. **J Biol Buccale** 16(3): 129-35.
- Sriwahyuni E, 1999. Pengaruh Alkil Benzen Sulfonat dalam Deterjen terhadap Respons Imun Mukosa Usus Mencit Mus Musculus Balb/c. **Disertasi**. Universitas Airlangga.
- Stites DP and Terr AL, 1993. **Basic & Clinical Immunology**. 8<sup>th</sup> edition, Connecticut: Prentice-Hall International Inc., pp 40-49, 137-150.
- Stites DP, Terr AI, Parslow TG, 1997. **Medical Immunology**. 9<sup>th</sup> edition. Connecticut: Prentice-Hall International Inc., pp 63-73.
- Suyono, 1992. **Perubahan Immunologik Penderita Kanker Payudara Pasca Operasi, Radiasi dan Kemoterapi**. Disertasi Universitas Airlangga Surabaya, hlm 119.
- Tadakuma T, 1993. Possible-Application of The Laser in Immunobiology. **Keio-J-Med** 42:180.
- Torabinejad L, Eby WC, Naidorf IJ, 1985. Inflammatory and Immunological Aspects of The Pathogenesis of Human Periapical Lesions. **J Endod** 11:479.

- Trosko JE, 1998. Hierarchical and cybernetic nature of biologic systems and their relevance to homeostatic adaptation to low-level exposures to oxidative stress-inducing agents. **Environ Health Perspect** 106 Suppl 1(): 331-9.
- Wang JH, Redmond HP, Watson RW, Condron C, Bouchier-Hayes D, 1995. Induction of Heat Shock Protein 72 Prevents Neutrophil-Mediated Human Endothelial Cell Necrosis. **Arch Surg** 130(12): 1260-5.
- Welch WJ, 1993. How Cells Respond to Stress; **Scientific American**, pp 34.
- Widodo T, 1997. **Analisis Perubahan Immunopatologi Pada Pulpitis Reversibel dan Ireversibel untuk Memperbaiki Diagnosis Atas Dasar imunopatogenesis Pulpitis**. Surabaya: Disertasi, Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Wilden L and Karthein R, 1998. Import of radiation phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. **J Clin Laser Med Surg** 16(3): 159-65.
- Yu HS, Chang KL, Yu CL, Chen JW, Chen GS, 1996. Low-energy helium-neon laser irradiation stimulates interleukin-1 alpha and interleukin-8 release from cultured human keratino-cytes. **J Invest Dermatol** 107(4): 593-6.
- Zubkova SM, Mikhailik LV, Chabanenko SS, 1995. [The stress-limiting action of pulsed infrared laser radiation]. **Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult** (1): 3-4.

## PERNYATAAN PERSETUJUAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :  
 Jenis kelamin :  
 Umur :  
 Alamat/nomor tilpun :  
 No. KTP :  
 No. Status pasien/Puskesmas :

Telah mendengar dan atau membaca serta mengetahui bahwa :

- Tujuan penelitian untuk mengungkap pengaruh laser terhadap respons imun pulpitis
- Prosedur yang akan dilakukan melalui tahapan :
  - a. Pemeriksaan Roentgen foto gigi lokal dengan paparan sinar X yang kemungkinan menimbulkan efek ionisasi radiasi pada sel yang radiosensitif misal pada kulit, testes, mata. Untuk itu pemeriksaan Roentgen foto dilakukan oleh seorang ahli di bidangnya dengan dosis radiasi yang diindikasikan, prosedur yang tepat dengan penderita menggunakan apron.
  - b. Penyinaran laser daya rendah GaAlAs (daya 50 mW,  $\lambda$  830 nm) selama 2 menit atau 5 menit, satu kali pada gigi vital yang karies, dengan kemungkinan bahaya bila terpapar pada mata. Untuk itu penderita menggunakan kacamata antilaser dan penyinaran dilakukan setelah alat laser berada di dalam rongga mulut.
  - c. Pencabutan gigi vital dengan indikasi pencabutan untuk ortodontik dan prostodontik dengan kemungkinan fraktur akar gigi, perdarahan, pembengkakan, pingsan, alergi terhadap anestetikum, parestesi. Untuk itu dilakukan anamnesa sebelum pencabutan, pencabutan oleh dokter gigi dengan menggunakan bahan, alat dan prosedur yang tepat dan penyediaan bahan, alat untuk tindakan gawat darurat komplikasi pencabutan.
  - d. Pemeriksaan darah dengan pengambilan darah vena pada lipat siku tangan, dengan kemungkinan rasa sakit, hematoma, infeksi. Untuk itu pengambilan darah dilakukan oleh seorang ahli yang berpengalaman dengan memperhatikan tehnik aseptis.
  - e. Pemeriksaan urin
- Manfaat penyinaran laser bagi subyek yaitu penyembuhan dan mengurangi rasa sakit. Manfaat pemeriksaan darah dan urin untuk mengetahui keadaan kesehatan umum penderita.
- Sebagai penutup, saya telah membaca/dibacakan penjelasan tersebut diatas dan saya telah diberi kesempatan untuk menanyakan berbagai hal yang belum jelas dan telah diberi jawaban yang memuaskan.

Dengan ini saya menyatakan secara sukarela ikut sebagai subyek dalam penelitian ini. Dan saya tahu bahwa saya berhak untuk mengundurkan diri dari setiap waktu tanpa mempengaruhi perawatan medik saya selanjutnya.

Jakarta.....

Peneliti

Yang menyatakan,



SURAT KETERANGAN  
KELAIKAN ETIK PENELITIAN

Nomor : 007/SK/LE/1999

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan bahwa :

Nama Peneliti Utama : NUGROHOWATI P.B., drg., MS.  
Judul Penelitian : Pengaruh Laser GaAlAs Terhadap Perubahan Respon Imun Pulpitis (Suatu Pendekatan Terhadap Stress Cell).

Setelah mempelajari lembar isian panitia penelitian dan prosedur operasional pengambilan data, maka diputuskan penelitian tersebut :

- a. Laik etik
- b. Laik etik dengan usulan perbaikan :

.....  
.....

- c. Tidak laik etik

Catatan :

Panitia akan memantau prosedur operasional pengambilan data dari penelitian tersebut.

Surabaya, 4 Maret 1999

a.n. Ketua  
Sekretaris



ADI HAPSORO, drg., MS  
NIP. 130685844

93

## LAMPIRAN 4.

### 1. Pembuatan sediaan mikroskopik

#### a. Jaringan fiksasi

1. Jaringan pulpa yang difiksir dengan buffer formalin 10% selama 15 – 24 jam, kemudian dilakukan pemrosesan jaringan yaitu :
  - Dehidrasi : Jaringan direndam dalam ethanol mulai konsentrasi rendah sampai yang paling tinggi yaitu mulai ethanol 70% (selama 1 jam), 80% (1 jam), 85% (1 jam), 90% (1 jam), 95% (2 jam), 95% (1 jam) dan ethanol absolut (1 jam sebanyak 3 X).
  - Clearing : Xilol I (1jam), Xilol II (1 jam), Xilol III (2 jam).
  - Impregnasi : jaringan dimasukkan dalam paraffin dengan suhu 56-58<sup>0</sup> C, tahap I 2 jam, tahap II 2 jam, tahap III 3 jam.
  - Embedding : yaitu jaringan diblok dalam paraffin.
2. Blok parafin dipotong setebal 4 – 6  $\mu\text{m}$  dengan menggunakan mikrotom, dan irisan parafin dimasukkan dalam *water bath* dengan suhu 48<sup>0</sup>.
3. Irisan jaringan pulpa ditempelkan pada gelas obyek yang telah dilapisi dengan meyer albumin, kemudian dikeringkan pada suhu kamar, lalu masukkan dalam oven (alat pengering) pada temperatur 56-60<sup>0</sup> C sehingga siap dilakukan pewarnaan sesuai dengan komponen yang akan diaamati.

#### b. Jaringan segar

1. Jaringan pulpa yang dibungkus aluminium foil dan disimpan dalam nitrogen cair dengan suhu -70<sup>0</sup>C sampai -80<sup>0</sup>C dikeluarkan dan dibuat blok dengan

menggunakan bahan tanam resin merk tissue text-2 dila dan dilakukan pada refrigerator mikrotom (*cryostat*) dengan suhu  $-10^{\circ}\text{C}$  sampai  $-20^{\circ}\text{C}$ .

2. Setelah cairan bahan tanam membeku dan berwarna putih, maka jaringan sudah siap untuk dipotong.
3. Tebal potongan dibuat  $5-6\ \mu\text{m}$  dan diletakkan dalam gelas obyek yang telah dilapisi polyisin kemudian didiamkan dalam udara terbuka selama 15 menit sampai kering, kemudian fiksasi dengan acetone minimal 6 menit.
4. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan reagen yang sesuai dengan komponen yang diperiksa.

## **2. Prosedur Pewarnaan Imunoperoksidase (PAP)**

Pewarnaan imunoperoksidase dapat dilakukan pada jaringan yang telah di proses melalui metode parafin maupun pada jaringan segar (*frozen section*). Bila antigen yang diperiksa stabil, dapat digunakan sediaan dari irisan blok parafin, bila antigen labil (mudah rusak pada saat pemrosesan jaringan), maka sediaan berasal dari jaringan segar.

### **a. Untuk pewarnaan antibodi imunoglobulin G**

Bahan dan reagen :

1. Irisan jaringan pulpa dari blok parafin.
2. Larutan PBS depo pH 7,2-7,4
  - 1) 37,8 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$
  - 2) 7,4 gram  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
  - 3) 36,0 gram  $\text{NaCl}$

## 4) 200 ml Aquabidest

Bila larutan PBS depo ini akan digunakan, maka 40 ml larutan PBS depo diencerkan dengan akuades sampai 1000 ml larutan.

3. Aceton
4. Xylol
5. Hidrogen peroksidase
6. Larutan 0,5% CuSO<sub>4</sub>
7. Vectastain antimouse IgG kit (DAKO PATT)
8. Antibodi monoklonal / mouse anti human immunoglobulin (primary Ab)
9. Biotinylated anti Ig (secondary Ab)
10. Streptavidin
10. 10 ml larutan Diaminobenzidine DAB (3 mg DAB/ml PBS). Bahan ini sebelum digunakan, disimpan pada suhu dingin. DAB diduga sebagai bahan karsinogen.
11. Hematoxylin (Meyer).
12. Mounting medium / Entelan

**Teknik pewarnaan :**

1. Irisan blok parafin jaringan dilakukan deparafinisasi dengan xylol
2. Dehidrasi (alkohol) → pencucian air
3. Blocking reagent
4. Dilakukan pencucian dengan PBS
5. Menyiapkan larutan :



- a. 6 mikroliter biotinylated anti mouse yang dilarutkan dalam 1 ml PBS (larutan antibodi dengan tanda B).
- b. 12 mikroliter reagen A dan 12 mikroliter reagen B, dilarutkan dalam 1 ml PBS (larutan dengan tanda ABC).

Sebelum larutan ini digunakan, didiamkan selama 3 menit.

6. Diberikan larutan antibodi primer selama 30 menit
7. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
8. Diberi larutan antibodi sekunder (Link) selama 45-60 menit.
9. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
10. Diberi larutan streptavidin
11. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
12. Menyiapkan larutan DAB :  
10 ml DAB dan 10 mikroliter H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dicampur. Saat melakukan pembuatan larutan, gunakan sarung tangan dan semua alat yang terkena DAB dicuci dengan larutan HCl.
13. Sediaan ditetesi DAB sekitar 5-10 menit, sampai timbul warna coklat
14. Dicuci dengan PBS
15. Dicuci dengan Aquadest dan dibersihkan disekitar irisan jaringan
16. Pewarnaan dengan Hematoxylin (Meyer) → 12 menit
17. Dilakukan pencucian dengan air dan dibirukan dengan amonium air
18. Dilakukan dehidrasi, penjernihan dan mounting
19. Sediaan siap diamati di bawah mikroskop cahaya.

Prosedur yang sama dilakukan untuk Ig M dan makrofag.

**Untuk Pewarnaan subset limfosit T (jaringan segar)**

Reagen yang diperlukan :

1. Larutan PBS (pH 7,2-7,4)
2. Aceton
3. Universal Kit
4. Antibodi primer (Anti T4 dan anti T8)
5. Gliserin
6. Cutex jernih

**Teknik pewarnaan imunoperoksidase :**

(Untuk subset limfosit  $T_H CD4^+$  dan  $T_H CD8^+$ )

1. Sediaan jaringan segar ditetesi aceton 10 menit dan dibiarkan pada suhu kamar.
2. Dicuci dengan PBS dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
3. Diteteskan 1-3 tetes blocking reagent (vial 2), dan diinkubasi (20 menit).  
Selama inkubasi, sediaan jaringan segar diletakkan dalam bak yang diisi dengan air, selama inkubasi bak ditutup.
4. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
5. Diteteskan anti T4 (antibodi primer vial 3) untuk kontrol, dan sediaan ditetesi reagen kontrol kemudian kedua sediaan diinkubasi (20 menit).
6. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.

7. Diteteskan 1-3 tetes antibodi sekunder (biotinylated Ab) (vial 4) untuk link antibodi dan inkubasi (20 menit).
8. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
9. Diteteskan 1-3 labeling reagent (vial 5) yaitu streptavidin dan inkubasi (20 menit).

Selama inkubasi disiapkan larutan DAB + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

2 ml larutan pelarut (buffer) ditambah dengan 1 tetes DAB dan 1 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> di campur sampai homogen. Larutan ini (larutan substrat) dapat digunakan untuk 1-12 sediaan.

10. Dicuci dengan PBS → 3 X dan dibersihkan sisa PBS di sekitar irisan.
11. Ditambahkan 1-3 tetes larutan substrat dan inkubasi (20 menit)
12. Dicuci dengan PBS
13. Dicuci dengan Aquadest dan dibersihkan disekitar irisan
14. Dilakukan pewarnaan Hematoxylin (Meyer) → 12 menit
15. Dicuci dengan air dan selanjutnya diberi ammonium air (10 detik) sampai berwarna biru.
16. Dicuci dengan air
17. Ditetesi gliserin (mounting medium) dan ditutup gelas penutup.

Di sekitar gelas penutup diolesi cutex agar gliserin tidak meleleh. Sediaan siap diamati di bawah mikroskop cahaya.

Prosedur untuk T8 sama dengan T4 (Ab primer diganti dengan T8).

## LAMPIRAN 5 : DATA PENGAMATAN

	GROUP	KEL	SEX	UMUR	MO	IGG	IGM	CD4	CD8	
R E V	1	2	2	22	3	3	2	6	9	
	1	2	1	27	6	1	4	5	10	
	1	2	1	25	4	3	4	6	12	
	1	2	2	20	5	2	4	7	10	
	1	2	2	32	4	3	7	13	11	
	1	2	1	19	7	1	2	5	3	
	1	2	2	36	4	3	4	13	19	
	1	2	1	35	8	4	14	11	10	
	1	2	2	39	8	4	8	2	5	
	1	2	2	39	2	4	4	5	12	
I R R E V	1	3	1	33	5	6	8	7	14	
	1	3	2	23	11	8	5	17	14	
	1	3	1	31	8	4	8	13	11	
	1	3	2	25	10	8	8	10	9	
	1	3	1	19	13	6	8	13	12	
	1	3	2	32	9	7	4	24	20	
	1	3	2	20	4	3	5	17	20	
	1	3	1	28	25	12	10	23	19	
	1	3	2	25	17	21	7	25	9	
	1	3	2	35	5	3	2	20	17	
R E V	2	2	1	19	3	2	3	5	11	
	2	2	2	27	3	2	2	6	9	
	2	2	2	21	3	1	3	4	8	
	2	2	1	23	5	1	2	3	4	
	2	2	1	36	2	2	3	4	8	
	L 2 m	2	2	2	37	2	1	2	4	9
		2	2	1	22	4	3	2	5	8
		2	2	1	34	3	2	3	4	10
		2	2	1	25	7	4	5	3	7
2	2	2	19	2	3	4	2	5		
I R R E V	2	3	1	27	10	8	5	16	15	
	2	3	2	29	9	7	7	11	10	
	2	3	1	22	12	7	6	10	9	
	2	3	2	19	8	5	9	13	11	
	2	3	2	17	7	3	7	9	7	
	2	3	2	20	3	7	4	21	30	
	L 2 m	2	3	1	25	12	5	15	11	6
		2	3	1	40	10	8	5	19	20
		2	3	2	27	5	6	7	13	18
2	3	1	30	6	10	7	14	12		

	GROUP	KEL	SEX	UMUR	MO	IGG	IGM	CD4	CD8
R E V L E m	3	2	1	19	3	2	3	1	2
	3	2	1	33	1	1	3	1	2
	3	2	2	31	4	1	2	3	4
	3	2	2	37	3	2	1	2	2
	3	2	2	35	5	2	1	1	2
	3	2	1	22	2	1	2	2	3
	3	2	1	29	3	2	4	3	6
	3	2	1	35	3	5	2	2	5
I R R E V L E m	3	2	2	27	5	3	1	7	13
	3	2	1	23	4	4	2	5	10
	3	3	1	25	9	6	4	10	9
	3	3	2	22	7	5	3	9	6
	3	3	1	39	6	4	5	7	9
	3	3	1	35	5	6	7	10	7
	3	3	2	28	4	5	7	11	15
	3	3	2	17	12	6	4	14	11
L E m	3	3	1	26	23	11	10	23	19
	3	3	1	29	19	8	7	13	15
	3	3	2	24	4	5	7	13	11
	3	3	2	31	8	4	3	21	17

TABEL : DATA KENDALI

group	kel	sex	umur	hb	hema	led	liko	seg	limp
R	1	2	2	22	14	.42	13	5.0	55 30
E	1	2	1	27	13	.40	16	5.1	56 29
V	1	2	1	25	14.5	.41	14	5.2	57 27
	1	2	2	20	13.5	.39	17	5.0	55 30
	1	2	2	32	13.5	.40	16	5.0	58 28
	1	2	1	19	14	.39	17	5.0	57 29
	1	2	2	36	14	.42	14	5.0	56 30
	1	2	1	35	14	.40	13	5.0	55 30
	1	2	2	39	13	.40	15	5.2	56 29
	1	2	2	39	14	.42	15	5.0	57 27
I	1	3	2	23	13	.40	14	5.0	55 30
R	1	3	1	31	14	.40	13	5.0	56 29
R	1	3	2	25	13.5	.40	16	5.1	57 31
E	1	3	1	19	14.5	.42	14	5.0	58 29
V	1	3	2	32	13.5	.40	17	5.0	59 32
	1	3	2	20	14	.40	17	5.0	55 30
	1	3	1	28	15	.42	14	5.0	56 29
	1	3	2	25	13	.40	17	5.0	57 28
	1	3	2	35	14	.40	17	5.0	58 28
	1	1	2	20	13	.32	17	5.0	55 29
R	2	2	1	19	14	.42	14	5.0	55 30
E	2	2	2	27	13.5	.40	17	5.1	56 31
V	2	2	2	21	13	.40	17	5.0	55 32
	2	2	1	23	14.5	.40	13	5.0	56 27
L	2	2	1	36	14	.41	14	5.0	55 30
2	2	2	2	37	13	.42	16	5.2	56 30
m	2	2	1	22	14.5	.40	13	5.0	55 29
	2	2	1	34	14	.42	14	5.1	56 29
	2	2	1	25	14	.42	14	5.2	55 30
	2	2	2	19	14	.43	16	5.0	56 29
I	2	3	1	27	13	.40	17	5.0	55 30
R	2	3	2	29	14	.42	14	5.0	56 29
R	2	3	1	22	15	.41	14	5.1	54 30
E	2	3	2	19	13.5	.40	16	5.0	55 30
V	2	3	2	17	13.5	.40	17	5.0	56 29
	2	3	2	20	15	.41	13	5.0	55 28
L	2	3	1	25	13	.39	16	5.0	57 29
2	2	3	1	40	14	.41	14	5.0	56 30
m	2	3	2	27	13	.39	17	5.0	55 31
	2	3	1	30	13	.39	16	5.0	56 28

group	kel	sex	umur	hb	hema	led	liko	seg	limp
	3	2	1	19	13	.41	14	5.1	55 29
R	3	2	1	33	14	.39	14	5.0	56 30
E	3	2	2	31	13	.42	16	5.1	55 27
V	3	2	2	37	13	.36	16	5.2	59 29
	3	2	2	35	14.5	.41	15	5.5	56 27
L	3	2	1	22	14.5	.40	14	6.0	56 28
5	3	2	1	29	14	.42	14	5.5	56 28
m	3	2	1	35	15	.40	14	5.3	57 28
	3	2	2	27	14	.42	15	5.1	55 29
	3	2	1	23	13	.38	17	5.2	55 27
	3	3	1	25	13.2	.40	17	5.1	55 30
I	3	3	2	22	14	.42	14	5.2	56 27
R	3	3	1	39	15	.41	17	5.0	56 27
R	3	3	1	35	13	.40	17	5.0	55 29
E	3	3	2	28	13.5	.32	17	5.2	56 28
V	3	3	2	17	14	.41	15	5.2	55 30
	3	3	1	26	14.5	.42	14	6.0	57 29
L	3	3	1	29	14	.42	13	5.2	56 28
5	3	3	2	24	14	.40	14	5.3	57 27
m	3	3	2	31	14.5	.41	15	5.0	56 30

## KENDALI REVERSIBEL

PRO IF (KEL=2).

MAN hb hema led liko seg limp BY GROUP(1,3) /pri cell (all)/pri hema (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.

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

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2  3
Variable
GROUP          1  2  3

```

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. HB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	13.750	.486	10	13.402	14.098
GROUP	LASER 2m	13.850	.530	10	13.471	14.229
GROUP	LASER 5m	13.800	.753	10	13.261	14.339
For entire sample		13.800	.581	30	13.583	14.017

Variable .. HEMA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	.405	.012	10	.397	.413
GROUP	LASER 2m	.412	.011	10	.404	.420
GROUP	LASER 5m	.401	.020	10	.387	.415
For entire sample		.406	.015	30	.400	.412

Variable .. LED

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	15.000	1.491	10	13.934	16.066
GROUP	LASER 2m	14.800	1.549	10	13.692	15.908
GROUP	LASER 5m	14.900	1.101	10	14.113	15.687
For entire sample		14.900	1.348	30	14.397	15.403

Variable .. LIKO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	5.050	.085	10	4.989	5.111
GROUP	LASER 2m	5.060	.084	10	5.000	5.120
GROUP	LASER 5m	5.300	.298	10	5.087	5.513
For entire sample		5.137	.214	30	5.057	5.217



Variable .. SEG		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
GROUP	KONTROL	56.200	1.033	10	55.461	56.939
GROUP	LASER 2m	55.500	.527	10	55.123	55.877
GROUP	LASER 5m	56.000	1.247	10	55.108	56.892
For entire sample		55.900	.995	30	55.529	56.271

-----

Variable .. LIMP		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
GROUP	KONTROL	28.900	1.197	10	28.044	29.756
GROUP	LASER 2m	29.700	1.337	10	28.743	30.657
GROUP	LASER 5m	28.200	1.033	10	27.461	28.939
For entire sample		28.933	1.311	30	28.444	29.423

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

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1 1/2, N = 10)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.59721	1.63195	12.00	46.00	.116
Hotellings	1.01713	1.77998	12.00	42.00	.084
Wilks	.46494	1.71072	12.00	44.00	.097
Roys	.46297				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.86208	84.75581	84.75581	.68042
2	.15505	15.24419	100.00000	.36639

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.46494	1.71072	12.00	44.00	.097
2 TO 2	.86576	.71325	5.00	23.00	.620

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
HB	.05000	9.75000	.02500	.36111	.06923	.933
HEMA	.00062	.00590	.00031	.00022	1.41865	.260
LED	.20000	52.50000	.10000	1.94444	.05143	.950
LIKO	.40067	.92900	.20033	.03441	5.82239	.008
SEG	2.60000	26.10000	1.30000	.96667	1.34483	.277
LIMP	11.26667	38.60000	5.63333	1.42963	3.94041	.032

Averaged F-test with (12,162) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	14.51795	127.88490	1.20983	.78941	1.53257	.117

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. CONSTANT

-----

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 10)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.99991	42497.1360	6.00	22.00	.000
Hotellings	11590.1280	42497.1360	6.00	22.00	.000
Wilks	.00009	42497.1360	6.00	22.00	.000
Roys	.99991				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	11590.12800	100.00000	100.00000	.99996

-----  
Univariate F-tests with (1,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
HB	5713.20000	9.75000	5713.20000	.36111	15821.1692	.000
HEMA	4.94508	.00590	4.94508	.00022	22630.0422	.000
LED	6660.30000	52.50000	6660.30000	1.94444	3425.29714	.000
LIKD	791.56032	.92900	791.56032	.03441	23005.5219	.000
SEG	93744.3000	26.10000	93744.3000	.96667	96976.8621	.000
LIMP	25114.1333	38.60000	25114.1333	1.42963	17566.8808	.000

-----  
Averaged F-test with (6,162) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	132028.43873	127.88490	22004.73979	.78941	27874.81436	.000

KENDALI IRREVERSIBEL

PRO IF (KEL=3).

MAN hb hema led liko seg limp BY GROUP(1,3) /pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.

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

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2  3
Variable
GROUP          1  2  3
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. HB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	13.750	.677	10	13.266	14.234
GROUP	LASER 2m	13.700	.789	10	13.136	14.264
GROUP	LASER 5m	13.970	.613	10	13.532	14.408
For entire sample		13.807	.683	30	13.552	14.062

Variable .. HEMA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	.396	.028	10	.376	.416
GROUP	LASER 2m	.402	.010	10	.395	.409
GROUP	LASER 5m	.401	.030	10	.380	.422
For entire sample		.400	.024	30	.391	.408

Variable .. LED

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	15.600	1.647	10	14.422	16.778
GROUP	LASER 2m	15.400	1.506	10	14.323	16.477
GROUP	LASER 5m	15.300	1.567	10	14.179	16.421
For entire sample		15.433	1.524	30	14.864	16.002

Variable .. LIKO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	KONTROL	5.010	.032	10	4.987	5.033
GROUP	LASER 2m	5.010	.032	10	4.987	5.033
GROUP	LASER 5m	5.220	.294	10	5.010	5.430
For entire sample		5.080	.194	30	5.008	5.152

Variable .. SEG		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
GROUP	KONTROL	56.600	1.430	10	55.577	57.623
GROUP	LASER 2m	55.500	.850	10	54.892	56.108
GROUP	LASER 5m	55.900	.738	10	55.372	56.428
For entire sample		56.000	1.114	30	55.584	56.416

-----

Variable .. LIMP		Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
FACTOR	CODE					
GROUP	KONTROL	29.500	1.269	10	28.592	30.408
GROUP	LASER 2m	29.400	.966	10	28.709	30.091
GROUP	LASER 5m	28.500	1.269	10	27.592	29.408
For entire sample		29.133	1.224	30	28.676	29.590

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1 1/2, N = 10 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.63667	1.79016	12.00	46.00	.078
Hotellings	1.04400	1.82700	12.00	42.00	.075
Wilks	.44787	1.81224	12.00	44.00	.076
Roys	.44792				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.81133	77.71353	77.71353	.66927
2	.23267	22.28647	100.00000	.43446

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.44787	1.81224	12.00	44.00	.076
2 TO 2	.81125	1.07028	5.00	23.00	.402

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
HB	.41267	13.10600	.20633	.48541	.42507	.658
HENA	.00021	.01589	.00010	.00059	.17558	.840
LED	.46667	66.90000	.23333	2.47778	.09417	.910
LIK0	.29400	.79400	.14700	.02941	4.99874	.014
SEG	6.20000	29.80000	3.10000	1.10370	2.80872	.078
LIMP	6.06667	37.40000	3.03333	1.38519	2.18984	.131

Averaged F-test with (12,162) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	13.44021	148.01589	1.12002	.91368	1.22583	.269

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 10)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.99983	21098.6471	6.00	22.00	.000
Hotellings	5754.17648	21098.6471	6.00	22.00	.000
Wilks	.00017	21098.6471	6.00	22.00	.000
Roys	.99983				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	5754.17648	100.00000	100.00000	.99991

Univariate F-tests with (1,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
HB	5718.72133	13.10600	5718.72133	.48541	11781.2813	.000
HENA	4.79200	.01589	4.79200	.00059	8142.48515	.000
LED	7145.63333	66.90000	7145.63333	2.47778	2883.88789	.000
LIKO	774.19199	.79400	774.19199	.02941	26326.4263	.000
SEG	94080.0000	29.80000	94080.0000	1.10370	85240.2685	.000
LIMP	25462.5333	37.40000	25462.5333	1.38519	18382.0428	.000

Averaged F-test with (6,162) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	133185.87199	148.01589	22197.64533	.91368	24294.81413	.000

Lampiran 7

PRO IF (kel=2).

MAN mo igg igm CD4 CD8 BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

22 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```
-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
GROUP          1   2
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MD

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	pewagamt 1	5.091	1.973	11	3.766	6.416
GROUP	pengamat 2	5.091	1.973	11	3.766	6.416
For entire sample		5.091	1.925	22	4.237	5.944

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	pewagamt 1	3.091	1.446	11	2.119	4.062
GROUP	pengamat 2	3.182	1.328	11	2.290	4.074
For entire sample		3.136	1.356	22	2.535	3.737

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	pewagamt 1	5.545	3.503	11	3.192	7.899
GROUP	pengamat 2	5.455	3.446	11	3.140	7.769
For entire sample		5.500	3.391	22	3.996	7.004

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	pewagamt 1	7.273	3.552	11	4.886	9.659
GROUP	pengamat 2	6.909	3.177	11	4.775	9.043
For entire sample		7.091	3.294	22	5.631	8.551

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	pewagamt 1	10.455	4.228	11	7.614	13.295
GROUP	pengamat 2	10.000	3.873	11	7.798	12.602
For entire sample		10.227	3.963	22	8.470	11.985



## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 7 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.01171	.03791	5.00	16.00	.999
Hotellings	.01185	.03791	5.00	16.00	.999
Wilks	.98829	.03791	5.00	16.00	.999
Roys	.01171				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.01185	100.00000	100.00000	.10820

-----  
Univariate F-tests with (1,20) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	.00000	77.81818	.00000	3.89091	.00000	1.000
IG6	.04545	38.54545	.04545	1.92727	.02358	.879
IGM	.04545	241.45455	.04545	12.07273	.00377	.952
CD4	.72727	227.09091	.72727	11.35455	.06405	.803
CD8	1.13636	328.72727	1.13636	16.43636	.06914	.795

-----  
Averaged F-test with (5,100) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	1.95455	913.63636	.39091	9.13636	.04279	.999

## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. CONSTANT

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 7 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.98307	185.79594	5.00	16.00	.000
Hotellings	58.06123	185.79594	5.00	16.00	.000
Wilks	.01693	185.79594	5.00	16.00	.000
Roys	.98307				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	58.06123	100.00000	100.00000	.99150

-----  
Univariate F-tests with (1,20) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	570.18182	77.81818	570.18182	3.89091	146.54206	.000
IGG	216.40909	38.54545	216.40909	1.92727	112.28774	.000
IGM	665.50000	241.45455	665.50000	12.07273	55.12425	.000
CD4	1106.18182	227.09091	1106.18182	11.35455	97.42194	.000
CD8	2301.13636	328.72727	2301.13636	16.43636	140.00277	.000

-----  
Averaged F-test with (5,100) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	4859.40909	913.63636	971.88182	9.13636	106.37512	.000

PRO IF (ke1=3).

MAN MO IGG IGM CD4 CD8 BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

IR EN

18 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

-----  
 CELL NUMBER  
 1 2  
 Variable  
 GROUP 1 2

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	pemagant 1	11.333	6.461	9	6.367	16.300
GROUP	pemagant 2	11.111	6.431	9	6.168	16.055
For entire sample		11.222	6.255	18	8.112	14.333

-----  
 Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	pemagant 1	8.000	5.657	9	3.652	12.348
GROUP	pemagant 2	7.667	5.385	9	3.527	11.806
For entire sample		7.833	5.361	18	5.168	10.499

-----  
 Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	pemagant 1	6.333	2.500	9	4.412	8.255
GROUP	pemagant 2	6.222	2.438	9	4.348	8.096
For entire sample		6.278	2.396	18	5.086	7.469

-----  
 Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	pemagant 1	18.000	5.362	9	13.878	22.122
GROUP	pemagant 2	17.444	5.151	9	13.485	21.403
For entire sample		17.722	5.108	18	15.182	20.263

-----  
 Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	pemagant 1	14.556	4.558	9	11.052	18.059
GROUP	pemagant 2	14.444	4.419	9	11.048	17.841
For entire sample		14.500	4.356	18	12.334	16.666

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

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 5 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.01502	.03659	5.00	12.00	.999
Hotellings	.01524	.03659	5.00	12.00	.999
Wilks	.98498	.03659	5.00	12.00	.999
Roys	.01502				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.01524	100.00000	100.00000	.12254

Univariate F-tests with (1,16) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	.22222	664.88889	.22222	41.55556	.00535	.943
IG6	.50000	488.00000	.50000	30.50000	.01639	.900
IGM	.05556	97.55556	.05556	6.09722	.00911	.925
CD4	1.38889	442.22222	1.38889	27.63889	.05025	.825
CD8	.05556	322.44444	.05556	20.15278	.00276	.959

Averaged F-test with (5,80) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	2.22222	2015.11111	.44444	25.18889	.01764	1.000

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. CONSTANT

Adjusted Hypothesis Sum-of-Squares and Cross-Products

	MO	IG6	IGM	CD4	CD8
MO	2266.88889				
IG6	1582.33333	1104.50000			
IGM	1268.11111	885.16667	709.38889		
CD4	3579.88889	2498.83333	2002.61111	5653.38889	
CD8	2929.00000	2044.50000	1638.50000	4625.50000	3784.50000

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 5)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.98716	184.47178	5.00	12.00	.000
Hotellings	76.86324	184.47178	5.00	12.00	.000
Wilks	.01284	184.47178	5.00	12.00	.000
Roys	.98716				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	76.86324	100.00000	100.00000	.99356

Univariate F-tests with (1,16) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MO	2266.88889	664.88889	2266.88889	41.55556	54.55080	.000
IG6	1104.50000	488.00000	1104.50000	30.50000	36.21311	.000
IGM	709.38889	97.55556	709.38889	6.09722	116.34624	.000
CD4	5653.38889	442.22222	5653.38889	27.63889	204.54472	.000
CD8	3784.50000	322.44444	3784.50000	20.15278	187.79049	.000

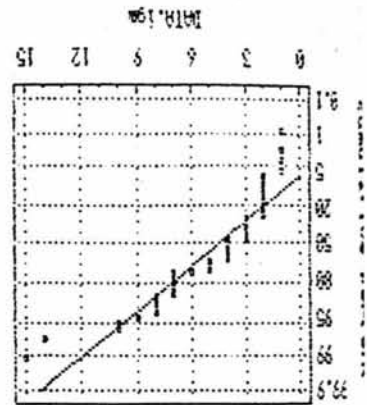
Averaged F-test with (5,80) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	13518.66667	2015.11111	2703.73333	25.18889	107.33833	.000

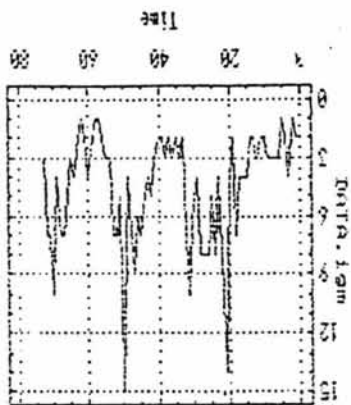
		PENGAMAT 1					PENGAMAT 2				
group	kel	no	igg	igm	cd4	cd8	no	igg	igm	cd4	cd8
1	1	1	1	1	2	1 2	2	1	2	1	2
1	1	2	1	1	1	1 2	2	2	1	2	2
1	1	4	2	4	2	3	4	2	4	2	3
1	1	1	1	1	2	1 2	1	1	2	1	2
1	1	5	2	1	3	6	4	2	1	3	6
1	1	3	2	3	4	6	3	2	3	4	6
1	1	5	2	3	4	7	5	2	3	3	7
1	1	3	5	3	4	7	3	4	3	4	6
1	1	1	8	3	5	8	1	8	3	5	7
1	1	4	1	2	3	6	4	1	2	3	6
5	1	1	2	1	2	2 4	2	1	2	2	4
1	1	4	2	3	1	1	4	2	3	1	1
1	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	2
1	2	3	3	2	6	9	3	3	2	5	8
1	2	6	1	4	5	10	6	2	4	5	9
1	2	4	3	4	6	12	4	3	4	6	11
1	2	5	2	4	7	10	5	2	4	7	10
1	2	4	3	7	13	11	4	3	7	12	11
1	2	7	1	2	5	3	7	1	2	5	3
1	2	4	3	4	13	19	4	3	4	12	17
1	2	8	4	14	11	10	8	4	14	10	10
1	2	8	4	8	2	5	8	4	7	2	5
1	2	2	4	4	5	12	2	4	4	5	12
1	2	5	6	8	7	14	5	6	8	7	14
1	3	11	8	5	17	14	11	7	5	17	14
1	3	8	4	8	13	11	7	4	8	12	11
1	3	10	8	8	10	9	10	7	7	10	9
1	3	13	6	8	13	12	13	6	8	13	12
1	3	9	7	4	24	20	9	7	4	24	20
1	3	4	3	5	17	20	4	3	5	16	19
1	3	25	12	10	23	19	25	12	10	21	19
1	3	17	21	7	25	9	16	20	7	24	9
1	3	5	3	2	20	17	5	3	2	20	17

REV

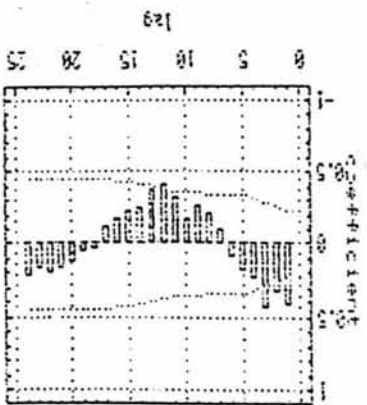
IRREV



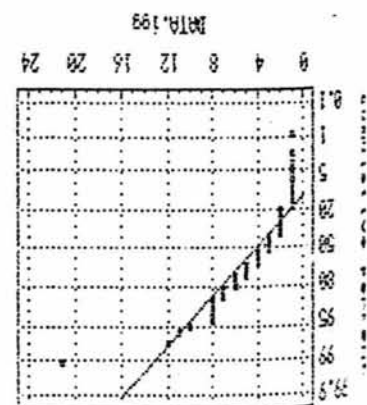
Normal Probability Plot



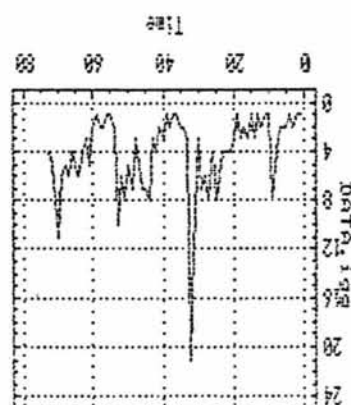
Time Sequence Plot



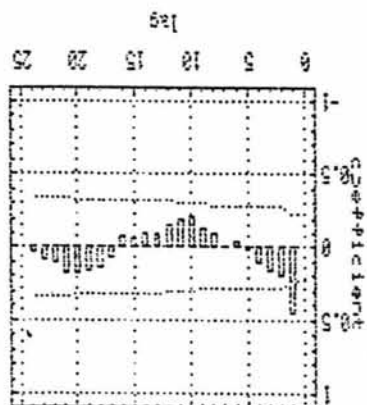
Estimated Autocorrelations



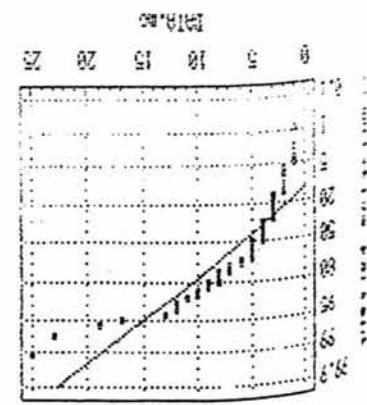
Normal Probability Plot



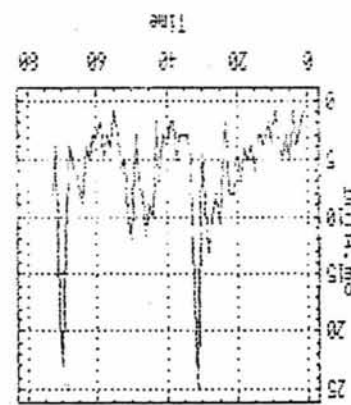
Time Sequence Plot



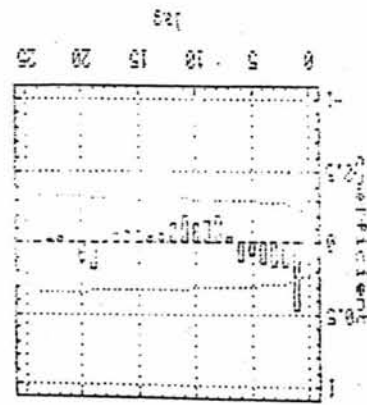
Estimated Autocorrelations



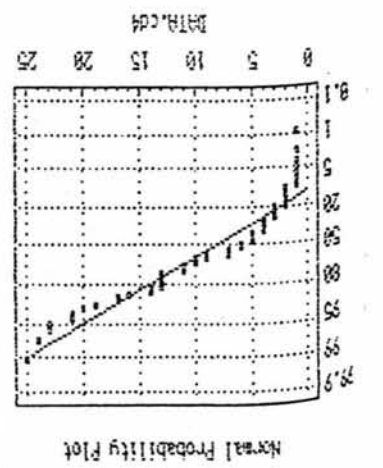
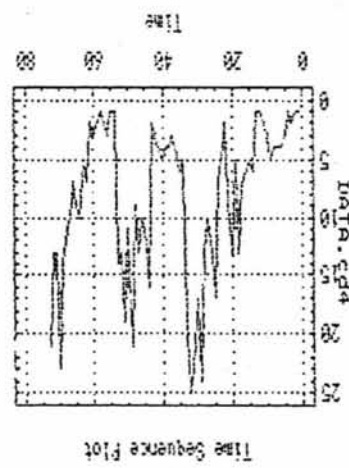
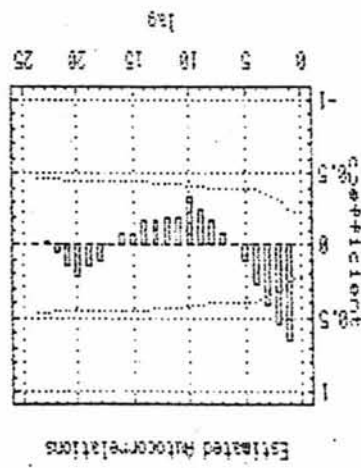
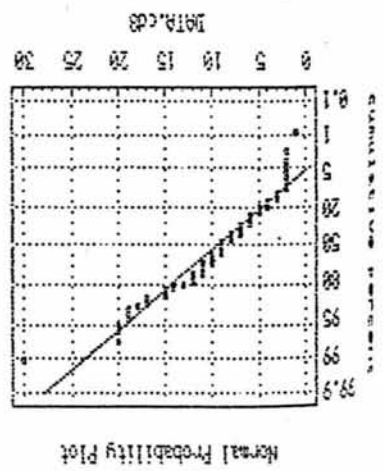
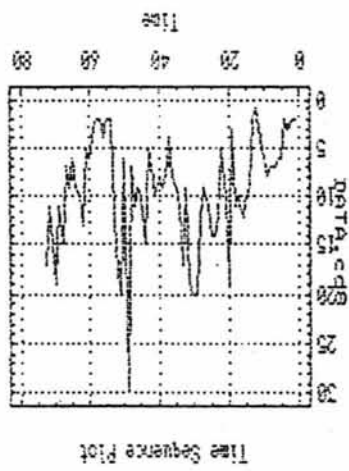
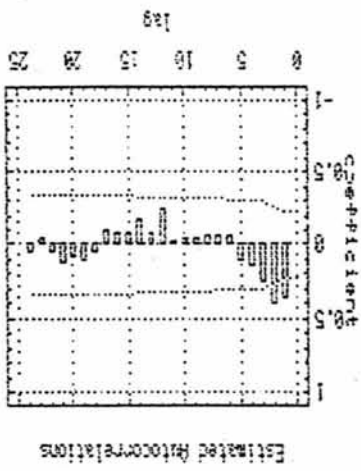
Normal Probability Plot



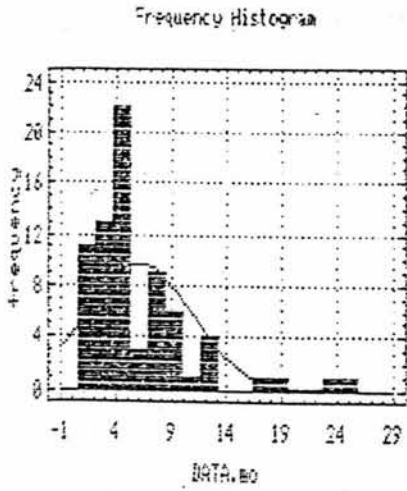
Time Sequence Plot



Estimated Autocorrelations

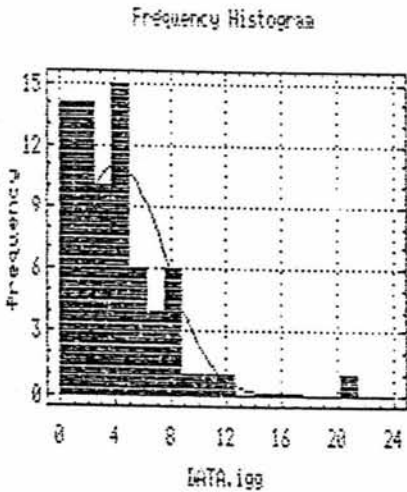






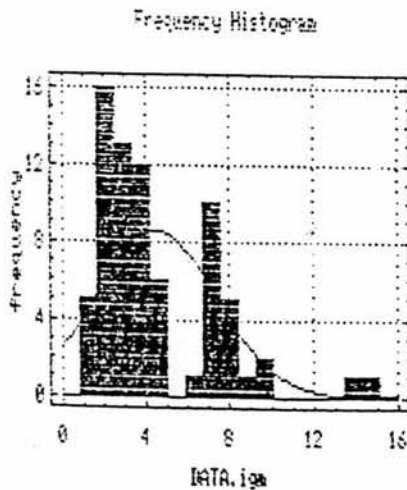
Mean: 6.05479  
Standard deviation: 4.72549

Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.218454  
Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.14238  
Estimated overall statistic DN = 0.218454  
Approximate significance level = 1.8941E-3



Mean: 4.17808  
Standard deviation: 3.31387

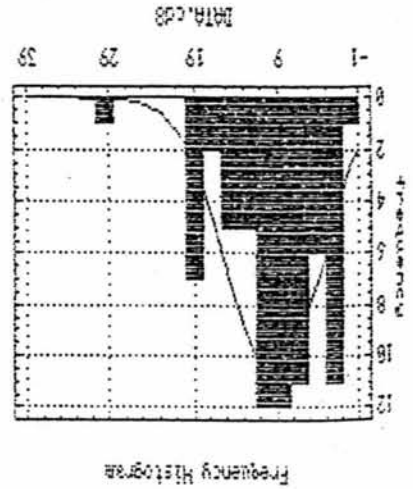
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.159442  
Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.168773  
Estimated overall statistic DN = 0.168773  
Approximate significance level = 0.0312558



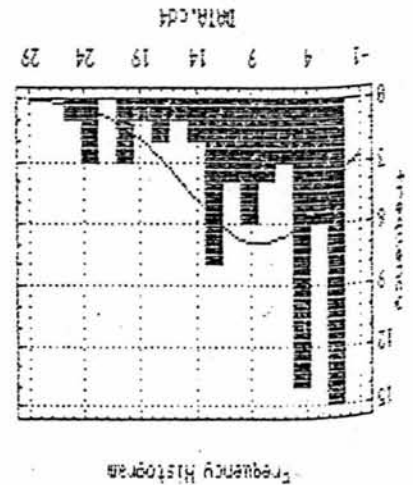
Mean: 4.49315  
Standard deviation: 2.99215

Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.197836  
Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.125539  
Estimated overall statistic DN = 0.197836  
Approximate significance level = 6.59662E-3

Mean: 9,41096  
 Standard deviation: 5,65891  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0,115456  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0,0814651  
 Estimated overall statistic DN = 0,115456  
 Approximate significance level = 0,284801



Mean: 8,34247  
 Standard deviation: 6,58959  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0,173459  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0,132595  
 Estimated overall statistic DN = 0,173459  
 Approximate significance level = 0,0247313



Lampiran 9

```
title 'reversibel'.
pro if (kel=2).
MAN mo IGG igm CD4 CD8 BY group(1,3) /pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.
```

```
30 cases accepted.
0 cases rejected because of out-of-range factor values.
0 cases rejected because of missing data.
3 non-empty cells.
```

1 design will be processed.

```
-----
          CELL NUMBER
          1  2  3
Variable
GROUP    1  2  3
```

Cell Means and Standard Deviations

```
Variable .. MD
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval
```

GROUP	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PILPITIS	5.100	2.079	10	3.613 6.587
GROUP	LASER 2m	3.400	1.578	10	2.271 4.529
GROUP	LASER 5m	3.300	1.252	10	2.405 4.195
For entire sample		3.933	1.818	30	3.254 4.612

```
-----
Variable .. IGG
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval
```

GROUP	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PILPITIS	2.800	1.135	10	1.988 3.612
GROUP	LASER 2m	2.100	.994	10	1.389 2.811
GROUP	LASER 5m	2.300	1.337	10	1.343 3.257
For entire sample		2.400	1.163	30	1.966 2.834

```
-----
Variable .. IGM
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval
```

GROUP	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PILPITIS	5.300	3.592	10	2.731 7.869
GROUP	LASER 2m	2.900	.994	10	2.189 3.611
GROUP	LASER 5m	2.100	.994	10	1.389 2.811
For entire sample		3.433	2.555	30	2.479 4.388

```
-----
Variable .. CD4
  FACTOR      CODE      Mean Std. Dev.      N 95 percent Conf. Interval
```

GROUP	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PILPITIS	7.300	3.743	10	4.622 9.978
GROUP	LASER 2m	4.000	1.155	10	3.174 4.826
GROUP	LASER 5m	2.700	1.947	10	1.308 4.092
For entire sample		4.667	3.133	30	3.497 5.837

Variable .. CDB	FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PILPITIS		10.100	4.280	10	7.038	13.162
GROUP	LASER 2m		7.900	2.132	10	6.375	9.425
GROUP	LASER 5m		4.900	3.814	10	2.172	7.628
For entire sample			7.633	4.038	30	6.125	9.141

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1, N = 10 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.68532	2.50215	10.00	48.00	.017
Hotellings	1.32424	2.91333	10.00	44.00	.007
Wilks	.39548	2.71465	10.00	46.00	.010
Roys	.53401				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	1.14595	86.53647	86.53647	.73076
2	.17829	13.46353	100.00000	.38899

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.39548	2.71465	10.00	46.00	.010
2 TO 2	.84869	1.06974	4.00	24.00	.393

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MG	20.46667	75.40000	10.23333	2.79259	3.66446	.039
IG6	2.60000	36.60000	1.30000	1.35556	.95902	.396
IGM	55.46667	133.90000	27.73333	4.95926	5.59223	.009
CD4	112.46667	172.20000	56.23333	6.37778	8.81707	.001
CDB	136.26667	336.70000	68.13333	12.47037	5.46362	.010

Averaged F-test with (10,135) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
-----------	------------	----------	------------	----------	---	-----------

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

EFFECT .. CONSTANT

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 10 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.93815	69.77468	5.00	23.00	.000
Hotellings	15.16841	69.77468	5.00	23.00	.000
Wilks	.06185	69.77468	5.00	23.00	.000
Roys	.93815				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dum. Pct.	Canon Cor.
1	15.16841	100.00000	100.00000	.96858

-----  
Univariate F-tests with (1,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	464.13333	75.40000	464.13333	2.79259	166.20159	.000
IGG	172.80000	36.60000	172.80000	1.35556	127.47541	.000
IGM	353.63333	133.90000	353.63333	4.95926	71.30769	.000
CD4	653.33333	172.20000	653.33333	6.37778	102.43902	.000
CD8	1748.03333	336.70000	1748.03333	12.47037	140.17493	.000

-----  
Averaged F-test with (5,135) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	3391.93333	754.80000	678.38667	5.59111	121.33307	.000

## Lampiran 10

title 'irreversibel'.

pro if (kel=3).

MAN no IGG ign CD4 CDB BY group(1,3) /pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

30 cases accepted.

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

0 cases rejected because of missing data.

3 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2   3
Variable
GROUP          1   2   3
  
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MD

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PILPITIS	10.700	6.413	10	6.113	15.287
GROUP	LASER 2m	8.200	2.974	10	6.073	10.327
GROUP	LASER 5m	9.700	6.499	10	5.051	14.349
For entire sample		9.533	5.450	30	7.498	11.569

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PILPITIS	7.800	5.371	10	3.958	11.642
GROUP	LASER 2m	6.600	1.955	10	5.201	7.999
GROUP	LASER 5m	6.000	2.108	10	4.492	7.508
For entire sample		6.800	3.478	30	5.501	8.099

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PILPITIS	6.500	2.415	10	4.772	8.228
GROUP	LASER 2m	7.200	3.084	10	4.994	9.406
GROUP	LASER 5m	5.700	2.263	10	4.081	7.319
For entire sample		6.467	2.596	30	5.497	7.436

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PILPITIS	16.900	6.136	10	12.510	21.290
GROUP	LASER 2m	13.700	3.917	10	10.898	16.502
GROUP	LASER 5m	13.100	5.152	10	9.414	16.786
For entire sample		14.567	5.250	30	12.606	16.527

Variable .. CDB	FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PILPITIS		14.500	4.301	10	11.423	17.577
GROUP	LASER 2m		13.800	7.269	10	8.600	19.000
GROUP	LASER 5m		11.900	4.383	10	8.765	15.035
For entire sample			13.400	5.418	30	11.377	15.423

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

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 1, N = 10 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.32419	.92856	10.00	48.00	.516
Hotellings	.39758	.87467	10.00	44.00	.563
Wilks	.69896	.90214	10.00	46.00	.539
Roys	.21800				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.27878	70.11948	70.11948	.46691
2	.11880	29.88052	100.00000	.32586

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 2	.69896	.90214	10.00	46.00	.539
2 TO 2	.89382	.71279	4.00	24.00	.591

Univariate F-tests with (2,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MG	31.66667	829.80000	15.83333	30.73333	.51518	.603
IGG	16.80000	334.00000	8.40000	12.37037	.67904	.516
IGM	11.26667	184.20000	5.63333	6.82222	.82573	.449
CDA	83.46667	715.90000	41.73333	26.51481	1.57396	.226
CDB	36.20000	815.00000	18.10000	30.18519	.59963	.556

Averaged F-test with (10,135) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	179.40000	2878.90000	17.94000	21.32519	.84126	.590

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

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 10 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.95991	110.14109	5.00	23.00	.000
Hotellings	23.94372	110.14109	5.00	23.00	.000
Wilks	.04009	110.14109	5.00	23.00	.000
Roys	.95991				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	23.94372	100.00000	100.00000	.97975

Univariate F-tests with (1,27) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MO	2726.53333	829.80000	2726.53333	30.73333	88.71584	.000
JGG	1387.20000	334.00000	1387.20000	12.37037	112.13892	.000
IGM	1254.53333	184.20000	1254.53333	6.82222	183.88925	.000
CD4	6365.63333	715.90000	6365.63333	26.51481	240.07836	.000
CD8	5386.80000	815.00000	5386.80000	30.18519	178.45840	.000

Averaged F-test with (5,135) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	17120.70000	2878.90000	3424.14000	21.32519	160.56789	.000



Lampiran 11

proc if (kel=2) = REVERSIBEL .

MAN no IGG igm CD4 CD8 BY group(1,2) /pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.

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

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
GROUP          1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MD

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PULPITIS	5.100	2.079	10	3.613	6.587
GROUP	LASER 2m	3.400	1.578	10	2.271	4.529
For entire sample		4.250	1.997	20	3.316	5.184

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PULPITIS	2.800	1.135	10	1.988	3.612
GROUP	LASER 2m	2.100	.994	10	1.389	2.811
For entire sample		2.450	1.099	20	1.936	2.964

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PULPITIS	5.300	3.592	10	2.731	7.869
GROUP	LASER 2m	2.900	.994	10	2.189	3.611
For entire sample		4.100	2.845	20	2.768	5.432

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PULPITIS	7.300	3.743	10	4.622	9.978
GROUP	LASER 2m	4.000	1.155	10	3.174	4.826
For entire sample		5.650	3.183	20	4.160	7.140

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	PULPITIS	10.100	4.280	10	7.038	13.162
GROUP	LASER 2m	7.900	2.132	10	6.375	9.425
For entire sample		9.000	3.479	20	7.372	10.628

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 6 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.46487	2.43235	5.00	14.00	.087
Hotellings	.86869	2.43235	5.00	14.00	.087
Wilks	.53513	2.43235	5.00	14.00	.087
Roys	.46487				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.86869	100.00000	100.00000	.68181

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	14.45000	61.30000	14.45000	3.40556	4.24307	.054
IGG	2.45000	20.50000	2.45000	1.13889	2.15122	.160
IGH	28.80000	125.00000	28.80000	6.94444	4.14720	.057
CD4	54.45000	138.10000	54.45000	7.67222	7.09703	.016
CDB	24.20000	205.80000	24.20000	11.43333	2.11662	.163

Averaged F-test with (5,90) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	124.35000	550.70000	24.87000	6.11889	4.06446	.002

pro if (kel=3) = IRREVERSIBEL .  
 MAN no IGG igm CD4 CD8 BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.

20 cases accepted.  
 10 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```
-----
                CELL NUMBER
                1  2
Variable
GROUP          1  2
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PULPITIS	10.700	6.413	10	6.113 15.287
GROUP	LASER 2m	8.200	2.974	10	6.073 10.327
For entire sample		9.450	5.031	20	7.095 11.805

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PULPITIS	7.800	5.371	10	3.958 11.642
GROUP	LASER 2m	6.600	1.955	10	5.201 7.999
For entire sample		7.200	3.982	20	5.337 9.063

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PULPITIS	6.500	2.415	10	4.772 8.228
GROUP	LASER 2m	7.200	3.084	10	4.994 9.406
For entire sample		6.850	2.720	20	5.577 8.123

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PULPITIS	16.900	6.136	10	12.510 21.290
GROUP	LASER 2m	13.700	3.917	10	10.898 16.502
For entire sample		15.300	5.273	20	12.832 17.768

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	PULPITIS	14.500	4.301	10	11.423 17.577
GROUP	LASER 2m	13.800	7.269	10	8.600 19.000
For entire sample		14.150	5.824	20	11.424 16.876

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

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 6)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.17031	.57475	5.00	14.00	.719
Hotellings	.20527	.57475	5.00	14.00	.719
Wilks	.82969	.57475	5.00	14.00	.719
Roys	.17031				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.20527	100.00000	100.00000	.41269

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MG	31.25000	449.70000	31.25000	24.98333	1.25083	.278
IGG	7.20000	294.00000	7.20000	16.33333	.44082	.515
IGM	2.45000	138.10000	2.45000	7.67222	.31933	.579
CD4	51.20000	477.00000	51.20000	26.50000	1.93208	.181
CD8	2.45000	642.10000	2.45000	35.67222	.06868	.796

Averaged F-test with (5,90) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	94.55000	2000.90000	18.91000	22.23222	.85057	.518

pro if (kel=2) = REVERSIBEL .  
 MAN mo IGG ign CD4 CD8 BY group(3,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.  
 10 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1  2
Variable
GROUP          1  2
  
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	3.300	1.252	10	2.405	4.195
GROUP	PULPITIS	5.100	2.079	10	3.613	6.587
For entire sample		4.200	1.908	20	3.307	5.093

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	2.300	1.337	10	1.343	3.257
GROUP	PULPITIS	2.800	1.135	10	1.988	3.612
For entire sample		2.550	1.234	20	1.972	3.128

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	2.100	.994	10	1.389	2.811
GROUP	PULPITIS	5.300	3.592	10	2.731	7.869
For entire sample		3.700	3.045	20	2.275	5.125

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	2.700	1.947	10	1.308	4.092
GROUP	PULPITIS	7.300	3.743	10	4.622	9.978
For entire sample		5.000	3.742	20	3.249	6.751

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	4.900	3.814	10	2.172	7.628
GROUP	PULPITIS	10.100	4.280	10	7.038	13.162
For entire sample		7.500	4.763	20	5.271	9.729

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

-----  
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 6 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.55275	3.46044	5.00	14.00	.030
Hotellings	1.23587	3.46044	5.00	14.00	.030
Wilks	.44725	3.46044	5.00	14.00	.030
Roys	.55275				

-----  
 Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	1.23587	100.00000	100.00000	.74347

-----  
 Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	16.20000	53.00000	16.20000	2.94444	5.50189	.031
IG6	1.25000	27.70000	1.25000	1.53889	.81227	.379
IGM	51.20000	125.00000	51.20000	6.94444	7.37280	.014
CD4	105.80000	160.20000	105.80000	8.90000	11.88764	.003
CD8	135.20000	295.80000	135.20000	16.43333	8.22718	.010

-----  
 Averaged F-test with (5,90) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	309.65000	661.70000	61.93000	7.35222	8.42330	.000

pro if (kel=3) = IRREVERSIBEL .  
 MAN mo IGG igm CD4 CD8 BY group(3,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.  
 10 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
  GROUP         1   2
  
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	9.700	6.499	10	5.051 14.349
GROUP	PULPITIS	10.700	6.413	10	6.113 15.287
For entire sample		10.200	6.305	20	7.249 13.151

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	6.000	2.108	10	4.492 7.508
GROUP	PULPITIS	7.800	5.371	10	3.958 11.642
For entire sample		6.900	4.077	20	4.992 8.808

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	5.700	2.263	10	4.081 7.319
GROUP	PULPITIS	6.500	2.415	10	4.772 8.228
For entire sample		6.100	2.315	20	5.017 7.183

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	13.100	5.152	10	9.414 16.786
GROUP	PULPITIS	16.900	6.136	10	12.510 21.290
For entire sample		15.000	5.849	20	12.263 17.737

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval
GROUP	LASER 5m	11.900	4.383	10	8.765 15.035
GROUP	PULPITIS	14.500	4.301	10	11.423 17.577
For entire sample		13.200	4.432	20	11.126 15.274

##### ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN #####

EFFECT .. GROUP

-----  
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 6 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.24721	.91948	5.00	14.00	.497
Hotellings	.32839	.91948	5.00	14.00	.497
Wilks	.75279	.91948	5.00	14.00	.497
Roys	.24721				

-----  
 Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dum. Pct.	Canon Cor.
1	.32839	100.00000	100.00000	.49720

-----  
 Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	5.00000	750.20000	5.00000	41.67778	.11997	.733
IG6	16.20000	299.60000	16.20000	16.64444	.97330	.337
IGM	3.20000	98.60000	3.20000	5.47778	.58418	.455
CD4	72.20000	577.80000	72.20000	32.10000	2.24922	.151
CD8	33.80000	339.40000	33.80000	18.85556	1.79258	.197

-----  
 Averaged F-test with (5,90) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	130.40000	2065.60000	26.08000	22.95111	1.13633	.347



## Lampiran 12

pro if (kel=2).

dsc group group(3,4)/VAR mo IGG igm CD4 CD8 /met rao/PIN=0.5/POUT=0.5/ana all/stat all.

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

30 (unweighted) cases were processed.

10 of these were excluded from the analysis.

10 had missing or out-of-range group codes.

20 (unweighted) cases will be used in the analysis.

Number of Cases by Group

GROUP	Number of Cases		Label
	Unweighted	Weighted	
3	10	10.0	LASER 5mt
4	10	10.0	PULPITIS
Total	20	20.0	

Group Means

GROUP	MO	IGG	IGM	CD4	CD8
3	3.30000	2.30000	2.10000	2.70000	4.90000
4	5.10000	2.80000	5.30000	7.30000	10.10000
Total	4.20000	2.55000	3.70000	5.00000	7.50000

Group Standard Deviations

GROUP	MO	IGG	IGM	CD4	CD8
3	1.25167	1.33749	.99443	1.94651	3.81372
4	2.07900	1.13529	3.59166	3.74314	4.28045
Total	1.90843	1.23438	3.04527	3.74166	4.76279

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio  
with 1 and 18 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
MO	.76590	5.502	.0307
IGG	.95682	.8123	.3794
IGM	.70942	7.373	.0142
CD4	.60226	11.89	.0029
CD8	.68631	8.227	.0102

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

On groups defined by GROUP

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..... 1  
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00  
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

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

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
MO	1.0000000	1.0000000	.0307	5.501887
IGG	1.0000000	1.0000000	.3794	.8122744
IGM	1.0000000	1.0000000	.0142	7.372800
CD4	1.0000000	1.0000000	.0029	11.88764
CD8	1.0000000	1.0000000	.0102	8.227181

\*\*\*\*\*

At step 1, CD4 was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
	.60226	1 1	18.0
Equivalent F	11.8876	1	18.0 .0029
RAO'S V	11.88764	1	.0006 (APPROX.)

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

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
CD4	1.0000000	.0029	

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

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
MO	.9999812	.9999812	.0929	17.46007
IGG	.9526201	.9526201	.9086	
IGM	.9374202	.9374202	.1671	15.54959
CD8	.4705199	.4705199	.6976	

F statistics and significances between pairs of groups after step 1  
 Each F statistic has 1 and 18.0 degrees of freedom.

Group	Group	t
4 PULPITIS	3 LASER Sm	11.888 .0029

\*\*\*\*\*

At step 2, MO was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.50761	2 1	18.0	
Equivalent F	8.24503	2	17.0	.0031
RAO'S V	17.46007	2		.0002 (APPROX.)

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

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
MO	.9999812	.0929	
CD4	.9999812	.0091	

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

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IG6	.9489024	.9489024	.9963	
IGM	.7877542	.7877542	.4873	18.58064
CD8	.4385011	.4385011	.4393	18.85418

F statistics and significances between pairs of groups after step 2  
 Each F statistic has 2 and 17.0 degrees of freedom.

Group	Group	t
4 PULPITIS	3 LASER Sm	8.2450 .0031

\*\*\*\*\*

At step 3, CD8 was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.48841	3 1	18.0	
Equivalent F	5.58642	3	16.0	.0081
RAO'S V	18.85418	3		.0003 (APPROX.)

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

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
MD	.9319327	.0779	
CD4	.4535313	.3378	
CD8	.4385011	.4393	

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

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IGG	.8123439	.3753955	.7653	
IGM	.7326477	.3907378	.3788	20.87478

F statistics and significances between pairs of groups after step 3  
 Each F statistic has 3 and 16.0 degrees of freedom.

Group	Group 3	LASER 5a	t
4 PULPITIS		5.5864	.0081

\*\*\*\*\*

At step 4, IGM was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
Equivalent F	.46303	4 1	18.0
RAO'S V	4.34891	4	15.0 .0156
	20.87478	4	.0003 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 4 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
MD	.8224875	.2233	
IGM	.7326477	.3788	
CD4	.3907378	.6138	20.19821
CD8	.4078262	.3475	

----- Variables not in the analysis after step 4 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IGG	.6728345	.3118135	.4938	22.24571

F statistics and significances between pairs of groups after step 4  
 Each F statistic has 4 and 15.0 degrees of freedom.

Group	Group 3	LASER 5a	t
4 PULPITIS		4.3489	.0156

\*\*\*\*\*

At step 5, CD4 was removed from the analysis.

		Degrees of Freedom		Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.47123	3	1	18.0	
Equivalent F	5.98465	3	16.0	.0062	
RAO'S V	20.19821	3		.0002 (APPROX.)	

----- Variables in the analysis after step 5 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
MD	.8236880	.1959	
IGM	.8503877	.2246	
CD8	.9659462	.0228	

----- Variables not in the analysis after step 5 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IG6	.7385298	.7385298	.4065	22.05570
CD4	.3907378	.3907378	.6138	

F statistics and significances between pairs of groups after step 5  
 Each F statistic has 3 and 16.0 degrees of freedom.

Group	3	
	LASER	5a
Group	t	
4 PULPITIS	5.9847	.0062

\*\*\*\*\*

At step 6, IG6 was included in the analysis.

		Degrees of Freedom		Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.44937	4	1	18.0	
Equivalent F	4.59494	4	15.0	.0127	
RAO'S V	22.05570	4		.0002 (APPROX.)	

----- Variables in the analysis after step 6 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
MD	.8236152	.2193	
IG6	.7385298	.4065	
IGM	.7582031	.1703	
CD8	.7934744	.0187	

----- Variables not in the analysis after step 6 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
CD4	.3559801	.3118135	.8004	

F statistics and significances between pairs of groups after step 6  
 Each F statistic has 4 and 15.0 degrees of freedom.

Group	3
	LASER 5m
Group	t
4 PULPITIS	4.5947
	.0127

F level or tolerance or VIN insufficient for further computation.

Summary Table

Step	Action		Vars	Wilks'		Rao's V	Sig.	Change		Label
	Entered	Removed		In	Lambda			Sig.	in V	
1	CD4		1	.60226	.0029	11.88764	.0006	11.88764	.0006	
2	MO		2	.50761	.0031	17.46007	.0002	5.57243	.0182	
3	CDB		3	.48841	.0081	18.85418	.0003	1.39411	.2377	
4	IGM		4	.46303	.0156	20.87478	.0003	2.02060	.1552	
5		CD4	3	.47123	.0062	20.19821	.0002	-.67658	.4108	
6	IGG		4	.44937	.0127	22.05570	.0002	1.85750	.1729	

Classification Function Coefficients  
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP =	3	4
	LASER 5m	PULPITIS
	t	
MO	-1.281430	1.852532
IGG	1.184545	.6128143
IGM	-.1765196	.2534495
CDB	.2498912	.6908759
(constant)	-4.596620	-10.43561

*nilai K / Fisher*

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	1.22532	100.00	100.00	.7420416	0	.4493742	12.798	4	.0123

\* marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
MO	.46659
IGG	-.33769
IGM	.53949
CDB	.85116

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

On groups defined by GROUP

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 1

Minimum cumulative percent of variance... 100.00

Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

Classification Function Coefficients

(Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP	=	3	4
		LASER Sm	PULPITIS
		t	
MO		1.282633	1.848357
IGG		1.171762	.6571689
IGM		-.1670268	.2205112
CD4		-.2450182E-01	.8501692E-01
CD8		.2649018	.6387916
(constant)		-4.597571	-10.44706

*Fisher's*  
*3/0*

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	1.23587	100.00	100.00	.7434698	:	0	.4472527	12.472	5 .0289

\* marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
MO	.46022
IGG	-.30264
IGM	.48417
CD4	.15490
CD8	.71857

Structure Matrix:

## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 1

List of the 4 Variables used..

Variable Label

MD  
IGG  
IGM  
CDB

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		3	4
Group 3 LASER 5at	10	9 90.0%	1 10.0%
Group 4 PULPITIS	10	2 20.0%	8 80.0%
Ungrouped Cases	10	6 60.0%	4 40.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 85.00%

Classification Processing Summary

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



## ----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 1

List of the 5 Variables used..

Variable Label

-----  
 MD  
 IGS  
 IGM  
 CD4  
 CD8

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		3	4
Group 3 LASER 5mt	10	9 90.0%	1 10.0%
Group 4 PULPITIS	10	2 20.0%	8 80.0%
Ungrouped Cases	10	7 70.0%	3 30.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 85.00%

Classification Processing Summary

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

pola  
 title 'reversibel'.  
 pro if (kel=2).  
 MAN mo igg iga COB BY group(3,4) /pri cell (all)/pri howo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.  
 10 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

-----  
 CELL NUMBER  
 1 2  
 Variable  
 GROUP 1 2

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MD

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	4.229	1.604	10	3.081	5.376
GROUP	PULPITIS	9.448	3.851	10	6.693	12.203
For entire sample		6.838	3.926	20	5.001	8.676

-----  
 Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	2.724	1.584	10	1.591	3.858
GROUP	PULPITIS	1.716	.696	10	1.218	2.214
For entire sample		2.220	1.298	20	1.612	2.828

-----  
 Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	-.371	.176	10	-.496	-.245
GROUP	PULPITIS	1.343	.910	10	.692	1.994
For entire sample		.486	1.086	20	-.022	.995

-----  
 Variable .. COB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	1.224	.953	10	.543	1.906
GROUP	PULPITIS	6.978	2.957	10	4.862	9.093
For entire sample		4.101	3.645	20	2.395	5.807

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1, N = 6 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.86849	24.76567	4.00	15.00	.000
Hotellings	6.60418	24.76567	4.00	15.00	.000
Wilks	.13151	24.76567	4.00	15.00	.000
Roys	.86849				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	6.60418	100.00000	100.00000	.93193

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MO	136.19995	156.65302	136.19995	8.70295	15.64987	.001
IGG	5.08610	26.94695	5.08610	1.49705	3.39741	.082
IGM	14.68853	7.73519	14.68853	.42973	34.18060	.000
CDB	165.50690	86.88247	165.50690	4.82680	34.28913	.000

*sig*

Averaged F-test with (4,72) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 4	321.48148	278.21763	80.37037	3.86413	20.79907	.000

## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. CONSTANT

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1, N = 6 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.95590	81.27766	4.00	15.00	.000
Hotellings	21.67404	81.27766	4.00	15.00	.000
Wilks	.04410	81.27766	4.00	15.00	.000
Roys	.95590				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	21.67404	100.00000	100.00000	.97770

-----  
Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MD	935.25136	156.65302	935.25136	8.70295	107.46377	.000
IGG	98.58281	26.94695	98.58281	1.49705	65.85127	.000
IGH	4.72967	7.73519	4.72967	.42973	11.00607	.004
CDB	336.38975	86.88247	336.38975	4.82680	69.69203	.000

-----  
Averaged F-test with (4,72) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 4	1374.95359	278.21763	343.73840	3.86413	88.95613	.000

## Lampiran 13

POLA

pro if (kel=2).

MAN mo IGG igm CD4 CD8 BY group(3,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.

20 cases accepted.

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

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2

```

```

Variable
GROUP      1   2

```

## Cell Means and Standard Deviations

Variable .. MO

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	4.233	1.605	10	3.084	5.381
GROUP	PULPITIS	9.427	3.843	10	6.678	12.176
For entire sample		6.830	3.913	20	4.998	8.661

Variable .. IGG

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	2.695	1.567	10	1.574	3.816
GROUP	PULPITIS	1.840	.746	10	1.306	2.374
For entire sample		2.268	1.273	20	1.672	2.863

Variable .. IGM

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	-.351	.166	10	-.470	-.232
GROUP	PULPITIS	1.169	.792	10	.602	1.735
For entire sample		.409	.958	20	-.039	.857

Variable .. CD4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	-.066	.048	10	-.100	-.032
GROUP	PULPITIS	.621	.318	10	.393	.848
For entire sample		.277	.416	20	.082	.472

Variable .. CD8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	LASER 5m	1.298	1.010	10	.575	2.021
GROUP	PULPITIS	6.452	2.734	10	4.496	8.408
For entire sample		3.875	3.319	20	2.322	5.428

## \*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1\*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

-----  
Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 6 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.86468	17.89130	5.00	14.00	.000
Hotellings	6.38975	17.89130	5.00	14.00	.000
Wilks	.13532	17.89130	5.00	14.00	.000
Roys	.86468				

-----  
Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dum. Pct.	Canon Cor.
1	6.38975	100.00000	100.00000	.92988

-----  
Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MO	134.88464	156.09546	134.88464	8.67197	15.55409	.001
IGG	3.65495	27.11542	3.65495	1.50641	2.42626	.137
IGM	11.54388	5.89368	11.54388	.32743	35.25640	.000
CDA	2.35832	.93191	2.35832	.05177	45.55156	.000
CD8	132.80705	76.47386	132.80705	4.24855	31.25940	.000

-----  
Averaged F-test with (5,90) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	285.24885	266.51032	57.04977	2.96123	19.26559	.000

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 6 )

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.95860	64.83158	5.00	14.00	.000
Hotellings	23.15414	64.83158	5.00	14.00	.000
Wilks	.04140	64.83158	5.00	14.00	.000
Roys	.95860				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	23.15414	100.00000	100.00000	.97908

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
MO	932.88368	156.09546	932.88368	8.67197	107.57460	.000
ISG	102.83682	27.11542	102.83682	1.50641	68.26604	.000
IGN	3.34524	5.89368	3.34524	.32743	10.21676	.005
CD4	1.53718	.93191	1.53718	.05177	29.69094	.000
CD8	300.29808	76.47386	300.29808	4.24855	70.68253	.000

Averaged F-test with (5,90) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	1340.90100	266.51032	268.18020	2.96123	90.56391	.000