

- EPINEPHRINE

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TKD 19/05

- HYDROCORTISONE

Irm

- PROTHROMBINE TIME

P

**PENGARUH PEMBERIAN EPINEFRIN DIBANDING KORTISOL
TERHADAP JUMLAH PLATELET
DAN WAKTU PROTROMBIN
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) JANTAN**

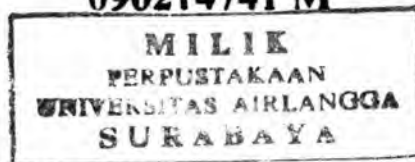
TESIS



Oleh :

ANIS IRMAWATI

090214741 M



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

September 2004

**PENGARUH PEMBERIAN EPINEFRIN DIBANDING KORTISOL
TERHADAP JUMLAH PLATELET
DAN WAKTU PROTROMBIN
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) JANTAN**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

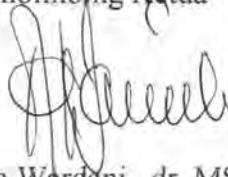


**Oleh :
ANIS IRMAWATI
090214741 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
September 2004**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 22 SEPTEMBER 2004**

Oleh
Pembimbing Ketua



Tjitra Wardani dr MS
NIP. 130676013

Pembimbing



Choesnan Effendi dr AIF
NIP. 130422850

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Retno Handajani dr MS PhD
NIP. 130541984

Telah diuji pada

Tanggal 22 September 2004

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr Paulus Liben dr MS

Anggota : Tjitra Wardani dr MS

Choesnan Effendi dr AIF

Muhammad Cholil Munif dr AIF

Jenny Sunariani drg MS

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmannirrahiim.

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Puji syukur senantiasa kami panjatkan kepada Illahi Rabbi – Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian ini pada waktunya. Sholawat beserta salam semoga tetap tercurah kepada Revolusioner Besar Rasulillah Muhammad SAW yang telah membawa kita melangkah dari kegelapan menuju Nur Illahi.

Terima kasih yang tak ternilai dan penghargaan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada Tjitra Wardani dr MS selaku Pembimbing Ketua yang dengan penuh kesabaran dan perhatian senantiasa memberikan arahan, bimbingan, kritik dan saran serta dorongan dan motivasi sejak penyusunan proposal, persiapan dan pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghormatan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada Choesnan Effendi dr AIF selaku Pembimbing yang selalu bersedia meluangkan waktu, tenaga, pikiran untuk memberikan bimbingan sejak penyusunan proposal, persiapan dan pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Dalam kesempatan ini pula, perkenankanlah kami mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah membantu kami, yakni :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof Dr Med Puruhito dr SpBTKV yang telah memberikan ijin dan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof Dr H. Muhammad Amin dr SpP yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Prof Dr Moh. Rubianto drg MS SpPerio yang telah memberikan ijin untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof Dr H. MS Wiyadi SpTHT yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
5. Kepala Laboratorium Biologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Markus Budi Rahardjo drg MS yang telah memberikan izin untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
6. Kepala Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Dr Harjanto JM dr AIF dan mantan Kepala Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof Martin Setiabudi dr PhD yang telah memberikan izin, bimbingan dan memfasilitasi kami selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
7. Prof Retno Handajani dr MS PhD selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang telah mengizinkan kami menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
8. Prof Soetjipto dr MS PhD selaku Kepala Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang banyak membantu perijinan dan penggunaan fasilitas Laboratorium Biokimia selama penelitian.
9. Dr Paulus Liben dr MS selaku ketua tim penguji dan Muh. Cholil Munif dr AIF selaku tim penguji yang telah banyak memberi masukan, saran dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan tesis.
10. Jenny Sunariani drg MS selaku tim penguji proposal dan tesis, juga Koordinator Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Gigi Unair yang telah banyak memberi motivasi dan dorongan untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
11. Semua dosen pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar minat studi Ilmu Faal yang banyak membantu selama menempuh pendidikan.
12. Semua staf pengajar dan karyawan Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Unair yang telah memberi dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan.

13. Staf pengajar Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Aqsa Syuhada drg MKes dan Yulianti drg MKes yang banyak membantu kelancaran tugas selama menempuh pendidikan
14. Direktur Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya Oentjoro Soebjacto dr MM yang telah berkenan memberikan ijin penggunaan fasilitas laboratorium pemeriksaan darah.
15. Titik Sundari SKM, Lindawati AMdK, Sunti Puspamati AMdK, Winarni AmdK, Bapak Buani, Wahjudwidjono Drs, staf Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya, yang berkenan membantu dalam persiapan dan pelaksanaan penelitian.
12. Eduardus Bimo AH drh MKes dan Nove Hidajati drh MKes selaku penanggung jawab pengelola kandang hewan percobaan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang membantu penyediaan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian.
13. Herry Soemantoro, Choirul, Oto, Heri, yang telah banyak membantu dalam penyediaan, pemeliharaan hewan coba dan pelaksanaan penelitian di Laboratorium Biokimia.
14. Dwi K SSi, staf pengajar Poltekkes Surabaya yang telah berkenan meluangkan waktu membantu dalam persiapan dan pelaksanaan penelitian.
15. Ayah dan Ibu tercinta, **HM. Nawawi dan Hj. Soetiati**, Abi dan Umy terkasih **H. Achmad Fayumi dan Hj. Siti Aminah** atas limpahan kasih sayang disertai ucapan terima kasih yang tiada hingga atas segala doa, jerih payah dan dukungan dan pengorbanan yang tiada pernah terbalaskan selama kami menempuh pendidikan hingga selesai.
16. Kakak tercinta **Hj. Maysaroh SE, Hj. Mustofiah, Dra Ulva Maria, Erni Innawati Spd, Afan Ruswandi** dan adik terkasih **Deddy Luthfianto ST dan Novia Ningrum SS**.

17. Suami terkasih **Abah Achmad Makky SE** dan putra putri tersayang **Noor Faizah Balqis A. Makky** dan **Zaidan Zamiir Fadhlullah A. Makky**, atas uluran cinta dan kasih sayang juga limpahan semangat yang tiada henti selama menempuh pendidikan sehingga penulis bisa menyelesaikan Pendidikan Program Pascasarjana pada waktunya.
18. Semua pihak yang telah membantu kami yang tiada dapat kami sebut satu persatu.

Akhirnya kami persembahkan gelar pascasarjana ini untuk **Agamaku, Negaraku, Ayah-Ibu, Aby-Umy, Kakak-Adik, Abah Makky-Balqis-Zam Zam**. Penulis membuka tangan bilamana ada kritik dan saran demi pengembangan ilmu pengetahuan.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah-Nya dan melapangkan jalan kita sekalian. Amin.

Wabillahittaufik wal hidayah , wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Surabaya, 22 September 2004

Penulis

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN EPINEFRIN DIBANDING KORTISOL
TERHADAP JUMLAH PLATELET
DAN WAKTU PROTROMBIN
PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) JANTAN**

ANIS IRMAWATI

Stres merupakan respon tubuh terhadap stresor, terdapat dua jenis stres yaitu stres fisik dan psikis. Stres fisik maupun psikis dapat memicu pengeluaran hormon stres yaitu katekolamin (epinefrin) dan glukokortikoid (kortisol). Epinefrin dan kortisol dapat mempengaruhi proses hemostasis, khususnya agregasi platelet. Agregasi platelet membutuhkan jumlah platelet yang cukup, demikian pula dengan pembentukan benang-benang fibrin. Waktu yang dibutuhkan untuk membentuk fibrin dapat ditentukan dengan waktu protrombin. Pengaruh epinefrin terhadap agregasi platelet adalah melalui ikatannya dengan α_2 AR (reseptor adrenergik α_2), sedang pengaruh kortisol terhadap agregasi platelet dengan cara menurunkan kadar Mg plasma sehingga akan terjadi peningkatan kadar Ca^{2+} plasma.

Rancangan penelitian adalah *The Pretest-Posttest Control Group Design*. Hewan coba yang digunakan adalah kelinci *Oryctolagus cuniculus*, jenis kelamin jantan dengan usia sekitar 1 tahun dan berat badan sekitar 1 kg; dibagi acak dalam 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 7 ekor. Perlakuan yang diberikan adalah epinefrin dosis 0,01 mg/ml/kg BB dan pemberian kortisol dosis 4 mg/ml/kg BB; perlakuan hanya diberikan sekali. Pengambilan data *pretest* dilakukan pada ketiga kelompok perlakuan, sedang pengambilan data *posttest* dilakukan 15 menit (15') dan 30 menit (30') setelah perlakuan sesuai dengan *peak level* obat.

Analisis deskriptif pada variabel tergantung jumlah platelet kelompok epinefrin adalah Pre = $265,71 \pm 139,83/\mu\text{l}$; 15' = $160,00 \pm 64,23/\mu\text{l}$; 30' = $237,14 \pm 126,78/\mu\text{l}$; kelompok kortisol Pre = $212,00 \pm 34,02/\mu\text{l}$; 15' = $220,40 \pm 60,69/\mu\text{l}$; 30' = $184,00 \pm 84,22/\mu\text{l}$; kelompok plasebo Pre = $195,83 \pm 51,35/\mu\text{l}$; 15' = $274,17$

$\pm 77,03/\mu\text{l}$; $30' = 269,17 \pm 93,83/\mu\text{l}$. Pada variabel tergantung waktu protrombin kelompok epinefrin Pre = $9,867 \pm 2,166$ detik; $15' = 7,000 \pm 1,000$ detik; $30' = 7,817 \pm 1,102$ detik; kelompok kortisol Pre = $10,117 \pm 2,782$ detik; $15' = 7,550 \pm 2,046$ detik; $30' = 6,286 \pm 1,272$ detik; kelompok plasebo Pre = $8,129 \pm 1,423$ detik; $15' = 8,800 \pm 1,229$ detik; $30' = 7,929 \pm 1,029$ detik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian epinefrin terdapat penurunan jumlah platelet secara signifikan ($p = 0,017$) dan waktu protrombin cenderung signifikan ($p = 0,050$) pada menit ke-15; pemberian kortisol terdapat penurunan jumlah platelet cenderung signifikan ($p = 0,050$) dan waktu protrombin secara signifikan ($p = 0,017$) pada menit ke-30. Namun tidak terdapat perbedaan pengaruh epinefrin dan kortisol terhadap jumlah platelet (hasil analisis Anova : perbedaan signifikan terdapat antara kelompok epinefrin dan plasebo, $p = 0,028$; sedang pada variabel waktu protrombin terdapat perbedaan signifikan antara kelompok epinefrin dan kortisol, $p = 0,023$).

SUMMARY

EFFECT OF EPINEPHRINE COMPARED CORTISOL ON PLATELETS COUNT AND PROTHROMBINE TIME ON MALE RABBIT (*Oryctolagus cuniculus*)

ANIS IRMAWATI

Stress was body response to stressor, there were two kinds of stress : physical and psychological stress. Both of them can induce released of stress hormones, catecholamine (epinephrine) and glucocorticoid (cortisol). Epinephrine and cortisol can effect haemostasis process, especially platelets aggregation. Platelet aggregation needed enough platelet count, thus fibrin formation. The time needed to form fibrin can be determined with prothrombine time. The effect of epinephrine on platelet aggregation was by binding with α_2AR (α_2 adrenergic receptor), while effect of cortisol on platelet aggregation by decreased Mg plasma level so increased Ca^{2+} plasma level.

This study used The Pretest-Posttest Control Group Design and used male rabbit *Oryctolagus cuniculus*, one year old, BW \pm 1 kg; divided by three groups, each group consist of 7 samples. Treatment given only once, addition of epinephrine 0.01 mg/ml/kg BW and addition cortisol 0,4 mg/ml/kg BW. The pretest data taken 3 hours before treatment, while the posttest data taken 15 and 30 minutes (15' & 30') after treatment.

Descriptive analysis dependent variable platelets count epinefrin group were Pre= $265,71 \pm 139,83/\mu l$; 15'= $160,00 \pm 64,23/\mu l$; 30'= $237,14 \pm 126,78/\mu l$; kortisol group Pre= $212,00 \pm 34,02/\mu l$; 15'= $220,40 \pm 60,69/\mu l$; 30'= $184,00 \pm 84,22/\mu l$; placebo group Pre= $195,83 \pm 51,35/\mu l$; 15'= $274,17 \pm 77,03/\mu l$; 30'= $269,17 \pm 93,83/\mu l$. Prothrombine time epinefrin group Pre= $9,867 \pm 2,166$ sec; 15'= $7,000 \pm 1,000$ sec; 30'= $7,817 \pm 1,102$ sec; kortisol group Pre= $10,117 \pm 2,782$ sec; 15'= $7,550 \pm 2,046$ sec; 30'= $6,286 \pm 1,272$ sec; plasebo group Pre = $8,129 \pm 1,423$ sec; 15'= $8,800 \pm 1,229$ sec; 30'= $7,929 \pm 1,029$ sec.

Result showed: on Epinephrine group, there was significant difference on platelet count variable between Pre & 15' ($p = 0,017$) and between 15' & 30' ($p = 0,047$); probably significant difference on prothrombine time variable between Pre & 15' ($p = 0,050$). On Cortisol group: there was probably significant different between 15' & 30' on platelet count variable ($p = 0,050$), and significant different between Pre & 30' on prothrombine time variable. The result suggested that Epinephrine and Cortisol can decreased platelet count and prothrombine time, but no difference between them on platelets count variable, while on prothrombine time variable there was significant difference ($p = 0,023$).

ABSTRACT**EFFECT OF EPINEPHRINE COMPARED CORTISOL
UPON PLATELETS COUNT AND PROTHROMBINE TIME
ON MALE RABBIT (*Oryctolagus cuniculus*)****ANIS IRMAWATI**

The aim of this study was to know the effect of epinephrine and cortisol on platelets count and prothrombine time. This study used the pretest - posttest control group design and used one year old male *Oryctolagus cuniculus* rabbits. Analysis unit platelet count ($/\mu\text{l}$) and prothrombine time (sec) were measured. Treatment given only once, addition of epinephrine (0,01 mg/ml/kg BW) and cortisol (0,4 mg/ml/kg BW). The pretest data taken 3 hours before treatment and the posttest data be taken 15 and 30 minutes (15' and 30') after treatment. Result showed : on Epinephrine group, there was significant difference on platelet count variable between Pre & 15' ($p = 0,017$) and between 15' & 30' ($p = 0,047$); probably significant difference on prothrombine time variable between Pre & 15' ($p = 0,050$). On Cortisol group : there was probably significant different between 15' & 30' on platelet count variable ($p = 0,050$), and significant different between Pre & 30' on prothrombine time variable. The result suggested that Epinephrine and Cortisol can decreased platelet count and prothrombine time, but no difference between them on platelets count variable, while on prothrombine time variable there was significant difference ($p = 0,023$).

Keywords : epinephrine, cortisol, platelets aggregation, platelets count and prothrombine time.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	
Sampul Dalam	i
Prasyarat Gelar	ii
Persetujuan	iii
Penetapan Panitia Penguji	iv
Ucapan Terima Kasih	v
Ringkasan	ix
Summary	xi
<i>Abstract</i>	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR GRAFIK	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR SINGKATAN	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Stres	5
2.2 Epinefrin	5
2.2.1 Sintesis epinefrin	6
2.2.2 Metabolisme epinefrin	7
2.2.3 Reseptor adrenergik.	9

2.2.4	Aktivitas fisiologi epinefrin	13
2.3	Kortisol	15
2.3.1	Sintesis kortisol	16
2.3.2	Aktivitas fisiologi kortisol	17
2.4	Koagulasi (penjendelan) darah	18
2.4.1	Platelet	24
2.4.1.1	Struktur dan fungsi platelet	25
2.4.1.2	Reseptor platelet	29
2.4.1.3	Reseptor adrenergik pada platelet	30
2.4.1.4	Aktivasi dan agregasi platelet	31
2.4.2	Faktor koagulasi darah	32
2.4.3	Mekanisme koagulasi darah	33
2.5	Peran epinefrin dan kortisol pada agregasi platelet	35
2.6	Jumlah platelet dan waktu protrombin	40
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	43
3.2	Hipotesis	46
BAB 4	MATERI DAN METODE PENELITIAN	
4.1	Rancangan Penelitian	47
4.2	Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Tehnik Pengambilan Sampel	48
4.2.1	Populasi	48
4.2.2	Sampel	48
4.2.3	Besar Sampel	48
4.2.4	Tehnik Pengambilan Sampel	49
4.3	Variabel Penelitian	50
4.3.1	Klasifikasi Variabel	50
4.3.1.1	Variabel bebas (<i>independent</i>)	50
4.3.1.2	Variabel tergantung (<i>dependent</i>)	50
4.3.1.3	Variabel kendali	50
4.3.2	Definisi Operasional Variabel	50
4.3.2.1	Epinefrin	50
4.3.2.2	Kortisol	51
4.3.2.3	Larutan PZ	51
4.3.2.4	Jumlah platelet	51
4.3.2.5	Waktu protrombin	52
4.3.2.6	Jenis hewan coba	52
4.3.2.7	Jenis kelamin hewan coba	52
4.3.2.8	Umur hewan coba	52
4.3.2.9	Pemeliharaan dan perawatan hewan coba	52
4.4	Bahan Penelitian	53
4.5	Instrumen Penelitian	53
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	54
4.6.1	Lokasi penelitian	54
4.6.2	Waktu penelitian	54

4.7	Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data	54
4.7.1	Pengambilan Data <i>Pretest</i>	54
4.7.2	Pelaksanaan Perlakuan	55
4.7.3	Pengambilan Data <i>Posttest</i>	55
4.8	Cara Pengolahan dan Analisis Data	55
BAB 5	ANALISIS HASIL PENELITIAN	
5.1	Data Penelitian	57
5.2	Analisis dan Hasil Penelitian	59
BAB 6	PEMBAHASAN	67
BAB 7	PENUTUP	
7.1	Kesimpulan	73
7.2	Saran	73
	DAFTAR PUSTAKA	74
	LAMPIRAN	80

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	: Distribusi reseptor adrenergik pada tubuh	10
Tabel 2.2	: Faktor-faktor koagulasi darah	21
Tabel 5.1	: Rerata dan simpang baku jumlah platelet Pre, 15' dan 30' menurut kelompok perlakuan	58
Tabel 5.2	: Rerata dan simpang baku waktu protrombin Pre, 15' dan 30' menurut kelompok perlakuan	59
Tabel 5.3	: Hasil uji normalitas data kelompok terhadap jumlah platelet Pre, 15' dan 30'	60
Tabel 5.4	: Hasil uji normalitas data kelompok terhadap waktu protrombin Pre, 15' dan 30'	60
Tabel 5.5	: Hasil uji beda variabel jumlah platelet sebelum dan sesudah perlakuan pada tiap kelompok	61
Tabel 5.6	: Hasil uji beda variabel waktu protrombin sebelum dan sesudah perlakuan pada tiap kelompok	63
Tabel 5.7	: Hasil uji beda variabel jumlah platelet dan waktu protrombin diantara ketiga kelompok	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Sintesis epinefrin pada medula adrenal	7
Gambar 2.2 : Metabolisme epinefrin	8
Gambar 2.3 : Mekanisme aktivasi Gprotein secara umum	12
Gambar 2.4 : Gambaran inti siklopentanoperhidropentantren	15
Gambar 2.5 : Sintesis hormon steroid pada korteks adrenal	16
Gambar 2.6 : Jalur intrinsik dan ekstrinsik pada hemostasis	23
Gambar 2.7 : Struktur platelet	28
Gambar 2.8 : Aktivitas adrenoseptor α_2 melalui Gprotein jenis G_i	31
Gambar 2.9 : Skema peran Gprotein pada aktivasi platelet	32
Gambar 2.10 : Tahapan pembentukan prostaglandin dan tromboksan pada platelet	33

DAFTAR GRAFIK

		Halaman
Grafik 2.1	: Hubungan antara jumlah protrombin dan waktu protrombin	41
Grafik 5.1	: Rerata jumlah platelet Pre, 15' dan 30' pada kelompok epinefrin	61
Grafik 5.2	: Rerata jumlah platelet Pre, 15' dan 30' pada kelompok kortisol	62
Grafik 5.3	: Rerata waktu protrombin Pre, 15' dan 30' pada kelompok epinefrin	63
Grafik 5.4	: Rerata waktu protrombin Pre, 15' dan 30' pada kelompok kortisol	64
Grafik 5.5	: Rerata jumlah platelet Pre, 15' dan 30' pada seluruh kelompok perlakuan	65
Grafik 5.6	: Rerata waktu protrombin Pre, 15' dan 30' pada seluruh kelompok perlakuan.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Pemeriksaan jumlah platelet dengan cara Rees & Ecker	80
Lampiran 2 : Pemeriksaan waktu protrombin dengan cara Quick ...	81
Lampiran 3.1 : Perhitungan dosis epinefrin	83
Lampiran 3.2 : Cara membuat larutan obat epinefrin	83
Lampiran 4.1 : Perhitungan dosis kortisol	84
Lampiran 4.2 : Cara membuat larutan obat kortisol	84
Lampiran 5 : Konversi perhitungan dosis untuk beberapa jenis hewan	85
Lampiran 6 : Volume maksimal yang dapat diberikan pada beberapa spesies hewan	86
Lampiran 7 : Data hasil pengukuran jumlah platelet dan waktu protrombin pada masing-masing kelompok	87
Lampiran 8 : Hasil analisis deskriptif	89
Lampiran 9 : Hasil uji normalitas	91
Lampiran 10 : Hasil uji multivariat (Manova)	94
Lampiran 11 : Hasil uji univariat (Anova) respon perubahan akibat perlakuan	100
Lampiran 12 : Grafik respon perubahan akibat perlakuan	101
Lampiran 13 : Skema pelaksanaan penelitian	105

DAFTAR SINGKATAN

		Halaman
1. ATP	: Adenosin trifosfat	6
2. cAMP	: cyclic AMP	30
3. E	: Epinefrin	6
4. Gi	: Gprotein tipe inhibitori	30
5. Gp	: Gprotein tipe p	14
6. GTP	: Guanosin trifosfat	30
7. Mg	: Ion magnesium	30
8. NE	: Norepinefrin	6
9. NMDA	: N-metil-D-aspartat	38
10. P	: Populasi	44
11. S	: Sampel	44
12. α_i	: Subunit α dari Gprotein tipe inhibitori	30
13. α_p	: Subunit α dari Gprotein tipe s	30
14. α_s	: Subunit α dari Gprotein tipe s yang mengaktifkan adenilil siklase	30
15. (α_i -GTP)	: Ikatan antara subunit α dari Gi dengan GTP membentuk kompleks α_i -GTP	30
16. (α_p -GTP)	: Ikatan antara subunit α dari Gs dengan GTP membentuk kompleks α_s -GTP	30
17. (α_s -GTP)	: Ikatan antara subunit α dari Gs dengan GTP membentuk kompleks α_s -GTP	30
19. β_i	: Subunit β dari Gprotein tipe inhibitori	30
20. γ_i	: Subunit γ dari Gprotein tipe inhibitori	30

Dialah ALLAH, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak menuju langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit, Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu (QS. 2 : 29).

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan (QS. 94 : 6).

Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap (QS. 94 : 8).

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam kehidupan sehari-hari setiap individu dapat mengalami stres. Stres dapat didefinisikan sebagai respon tubuh terhadap stimulus yang dikenal sebagai stresor (Zigmond, 1999; Vander, 2001). Ada dua macam stres yaitu stres fisik dan stres mental (psikis). Masih ada sementara kalangan masyarakat yang merasa takut sebelum berobat ke dokter gigi karena merasa akan dilakukan tindakan operatif, juga takut akan peralatan kedokteran gigi seperti jarum anestesi, tang cabut atau suara mesin dan bur dari unit dental. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Husnayaini (2001) bahwa sekitar 66% responden merasa cemas sebelum mengalami perawatan gigi. Rasa takut yang timbul pada penderita ini dapat digolongkan sebagai stres psikis (Kanel, 2001).

Stres fisik dan psikis dapat merangsang pengeluaran hormon stres yaitu epinefrin dan kortisol. Epinefrin dan kortisol dapat memacu hemostasis khususnya pada tahap agregasi platelet dan pembentukan benang-benang fibrin (Kanel, 2001; Bonnefey, 2003). Agregasi platelet agar dapat berlangsung dengan baik membutuhkan jumlah platelet yang cukup, demikian pula dengan pembentukan benang-benang fibrin (dapat diukur dengan waktu protrombin) selain membutuhkan jumlah platelet yang cukup juga membutuhkan faktor lain seperti faktor V, VII, X, protrombin dan fibrinogen (Lee, 1999).



Protrombin merupakan faktor koagulasi yang disintesis oleh hepatosit. Epinefrin diduga dapat merangsang pembentukan protrombin di hepar sehingga terjadi peningkatan jumlah protrombin sirkulasi. Fibrinogen merupakan protein plasma yang berperan dalam hemostasis yang juga disintesis di dalam hepar. Kortisol dapat menyebabkan katabolisme protein sehingga asam amino dalam darah meningkat, asam amino darah selanjutnya mengalami mobilisasi ke dalam hepar untuk mensintesis protein diantaranya adalah protein plasma fibrinogen. Protrombin dan fibrinogen merupakan faktor yang ikut menentukan normalitas waktu protrombin. Pengaruh stres epinefrin dan kortisol terhadap jumlah platelet dan waktu protrombin sampai saat ini belum banyak diketahui (Guyton, 2000; Katzung, 2001).

Berdasar uraian di atas, perlu diteliti pengaruh epinefrin dibanding kortisol terhadap agregasi platelet, khususnya pada jumlah platelet dan waktu protrombin. Pada penelitian ini digunakan hewan coba kelinci *Oryctolagus cuniculus*, jenis kelamin jantan, umur sekitar satu tahun dengan berat badan sekitar 1 kg, yang diberi perlakuan epinefrin dosis 0,01 mg/ml/kg BB kelinci dan kortisol dengan dosis 4 mg/ml/kg BB kelinci.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

- a. Apakah pemberian epinefrin dapat menurunkan jumlah platelet dan memperpendek waktu protrombin ?

- b. Apakah pemberian kortisol dapat menurunkan jumlah platelet dan memperpendek waktu protrombin ?
- c. Apakah ada perbedaan pemberian epinefrin dan kortisol terhadap penurunan jumlah platelet dan peningkatan waktu protrombin ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh epinefrin dan kortisol terhadap agregasi platelet pada kelinci *Oryctolagus cuniculus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk :

- a. membuktikan pemberian epinefrin menurunkan jumlah platelet dan waktu protrombin.
- b. membuktikan pemberian kortisol menurunkan jumlah platelet dan waktu protrombin.
- c. membandingkan pengaruh epinefrin dan kortisol terhadap jumlah platelet dan waktu protrombin.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat dibuktikan pengaruh epinefrin dan kortisol terhadap agregasi platelet, khususnya terhadap jumlah platelet dan waktu protrombin. Manfaat klinis dari penelitian ini adalah

memberi masukan bahwa stres psikis yang ditimbulkan oleh rasa takut pada penderita dapat dianalogkan memiliki efek positif yaitu meningkatkan jumlah platelet yang terlibat dalam agregasi dan memperpendek waktu protrombin.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stres

Stres merupakan respon tubuh terhadap stresor, seringkali disebut sebagai *fight or flight response*. Terdapat dua jenis stres, yaitu stres fisik dan psikis. Stres fisik dan psikis dapat memacu pengeluaran hormon stres, yaitu epinefrin yang disekresi oleh medula adrenal dan kortisol yang disekresi oleh korteks adrenal (Zigmond, 1999; Kanel, 2001).

Stres merangsang hipotalamus untuk mengeluarkan CRH (*corticotropic releasing hormone*), selanjutnya CRH merangsang hipofise anterior untuk mengeluarkan ACTH (*adrenocorticotropic hormone*), ACTH kemudian merangsang korteks adrenal untuk mengeluarkan glukokortikoid (kortisol). Hipotalamus juga merangsang medula oblongata sehingga sistem simpatik teraktivasi, sistem simpatik merangsang medula adrenal untuk mengeluarkan epinefrin. Epinefrin yang dikeluarkan oleh medula adrenal juga dapat merangsang hipofise anterior sehingga korteks adrenal terangsang untuk mengeluarkan kortisol (Ganong, 2001; Vander, 2001)

2.2 Epinefrin

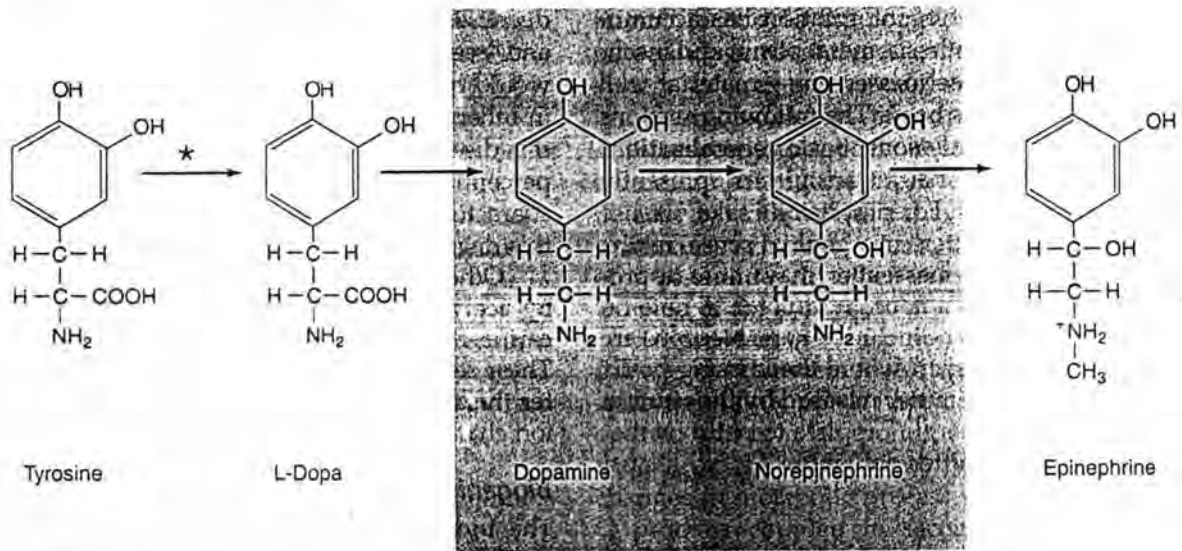
Medula adrenal merupakan sumber dari katekolamin sirkuler, yaitu epinefrin. Selain epinefrin, medula adrenal juga mensekresi sedikit norepinefrin juga dopamin. Kucing dan beberapa spesies terutama mensekresi norepinefrin,

namun pada anjing dan manusia sebagian besar katekolamin yang disekresi oleh medula adrenal epinefrin (Ganong, 2001; Vander, 2001).

Pada orang dewasa medula adrenal memiliki berat ± 1 g dan terdiri dari sel-sel kromafin (karena memiliki afinitas terhadap *chromium stains*). Pada sel-sel kromafin terdapat granula-granula dengan penampang 100-300 nm. Granula-granula ini berisi katekolamin, yaitu epinefrin dan norepinefrin (20 % dari berat), ATP dan nukleotida lain (15 %), protein (35 %), dan lipid (20 %). Selain di dalam granula juga terkandung enkephalin, β endorfin, peptida proopio melano cortin yang lain dan kromaganin (Berne, 1992; Lee, 1999).

2.2.1 Sintesis epinefrin

Hormon katekolamin disintesa oleh sel-sel kromafin melalui tahapan reaksi seperti pada gambar 2.1. Dopamin hidroksilase yang terdapat pada granula selanjutnya mengkatalisis pembentukan NE dari dopamin dengan bantuan molekul oksigen dan hidrogen donor. Saat istirahat NE berdifusi kembali ke sitoplasma. N-metilasi dilakukan oleh phenylethanolamin-N-methyl transferase dengan menggunakan 5-adenosylmethione sebagai metil donor. E yang terbentuk selanjutnya masuk kembali ke dalam granula chromafin, tempat penyimpanan E sebagai hormon medula adrenal yang predominan. *Uptake* dopamin, NE dan E oleh granula sekretorik merupakan transport aktif yang membutuhkan ATP dan Mg. Hormon katekolamin yang disimpan dalam granula pada konsentrasi tinggi juga memerlukan ATP, untuk menyimpan 4 mol katekolamin dan chromaganin A membutuhkan 1 mol ATP (Berne, 1992; Katzung, 2001).



Gambar 2.1 : Sintesis epinefrin pada medula adrenal (Vander V, Sherman J, Luciano D, 2001).

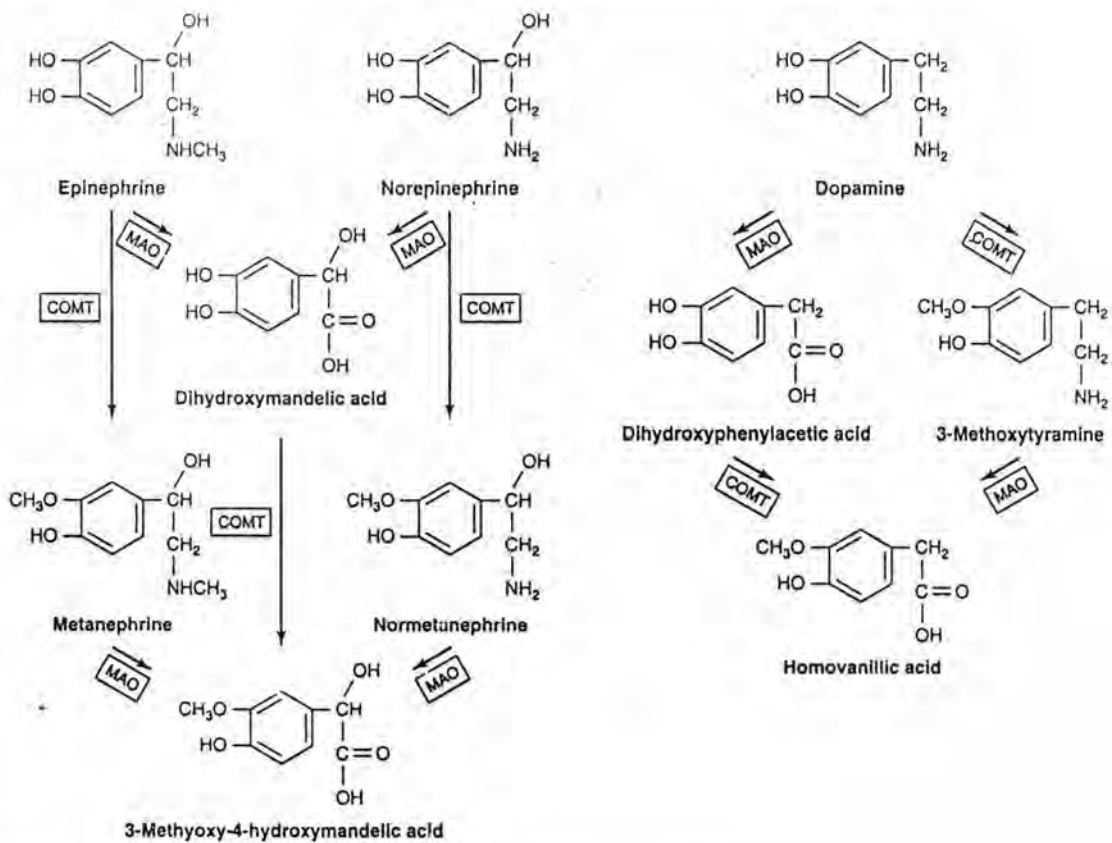
2.2.2 Metabolisme epinefrin

Semua epinefrin yang beredar di sirkuler berasal dari sekresi medula adrenal. Sebaliknya, sebagian besar norepinefrin sirkulasi berasal dari ujung-ujung saraf simpatik dan otak (Berne, 1992; Zigmond, 1999). Di dalam plasma 70 % norepinefrin dikonjugasi menjadi sulfat. Sulfat yang terkonjugasi menjadi inaktif. Kadar norepinefrin bebas dalam plasma adalah 300 pg/ml, saat berdiri meningkat 50-100 % (Ganong, 2001).

Epinefrin dan norepinefrin memiliki *life span* yang sangat pendek di sirkulasi, waktu paruh sekitar 1-3 menit. Penelitian yang telah dilakukan oleh Joyce (1984) menyatakan bahwa peningkatan kadar epinefrin plasma akibat pemberian methylphenidate terjadi pada menit ke-15. Dalam keadaan normal, ekskresi katekolamin adalah 50 µg/hr, 20 % epinefrin dan 80 % norepinefrin. 100

µg diekskresi dalam bentuk sulfat atau glukoronat terkonjugasi. Bila epinefrin dan norepinefrin disintesa dengan jumlah yang melebihi kapasitas simpanan, maka sebagian besar epinefrin di metabolisir di sel chromafin medula adrenal. Epinefrin dan norepinefrin sirkulasi dimetabolisme di sejumlah jaringan, terutama di liver dan ginjal (Berne, 1992).

Metabolisme epinefrin melalui tahapan reaksi berikut :



Gambar 2.2 : Metabolisme epinefrin (Murray RK, 2000).

2.2.3 Reseptor adrenergik

Upaya untuk memahami mekanisme kerja hormon katekolamin telah dimulai sejak 100 tahun yang lalu oleh Langley and Ehrlich yang menyatakan bahwa obat memiliki efek terhadap jaringan tubuh melalui interaksi dengan reseptor yang spesifik (Katzung, 2001). Terdapat beberapa tipe reseptor adrenergik (adrenoseptor), yaitu alfa (α), beta (β), dan dopamin (D). Reseptor α terdiri dari 2 tipe, yaitu α_1 dan α_2 . Reseptor α_1 terdiri dari empat subtipe, yaitu α_{1A} , α_{1B} , α_{1C} dan α_{1D} . Reseptor α_2 terdiri dari tiga subtipe, yaitu α_{2A} , α_{2B} dan α_{2C} . Adrenoseptor β terdiri dari tiga subtipe, yaitu β_1 , β_2 dan β_3 . Reseptor dopamin terdiri dari empat subtipe, yaitu D_1 , D_2 , D_3 dan D_4 . Reseptor-reseptor ini tersebar pada beberapa tempat seperti tampak pada tabel 2.1, khusus untuk platelet hanya mengandung reseptor α_2 (Becker, 1999; Katzung, 2001).

Tabel 2.1 : Distribusi reseptor adrenergik pada tubuh (Katzung, 2001).

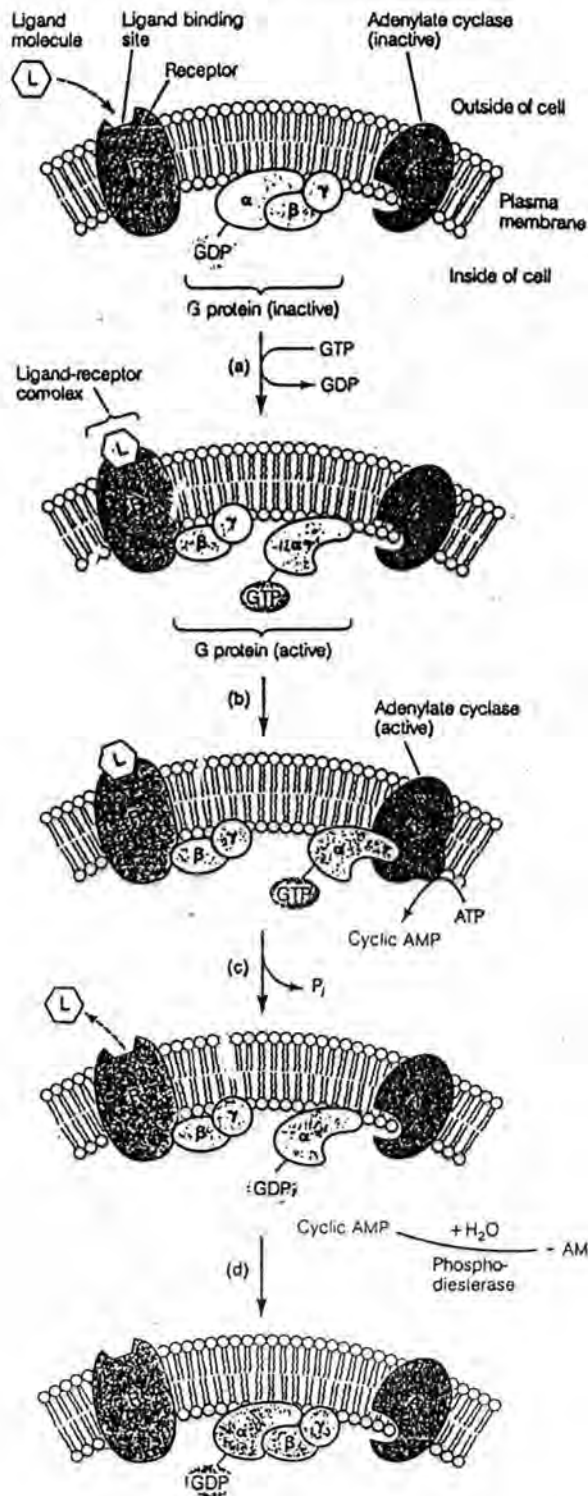
Tipe	Jaringan	Aktivitas
$\alpha 1$	Sebagian besar otot polos p. darah Otot dilatori pupil Otot polos pilomotor Liver tikus Jantung	Kontraksi Kontraksi (dilatasi pupil) Rambut berdiri Glikogenolisis Meningkatkan kekuatan kontraksi
$\alpha 2$	CNS post sinap, adrenoceptor Platelet Ujung saraf adrenergik dan kolinergik Pembuluh darah otot	Multipel Agregasi Menghambat pelepasan neurotransmitter Kontraksi
$\beta 1$	Sel lemak Jantung	Menghambat lipolisis Meningkatkan kekuatan dan kecepatan kontraksi
$\beta 2$	Respirasi, uterus dan otot polos p. darah Otot skelet Liver manusia	Merangsang relaksasi otot polos Merangsang <i>uptake</i> potasium Mengaktivasi glikogenolisis
$\beta 3$	Sel lemak	Mengaktivasi lipolisis
D1	Otot polos	Dilatasi pembuluh darah ginjal
D2	Ujung-ujung saraf	Memodulasi pelepasan transmitter

Efek katekolamin dimediasi oleh reseptor yang terdapat pada membran sel. Adrenoceptor nantinya akan berikatan dengan G protein. G protein terdiri dari tiga subunit, yaitu subunit α (memiliki ukuran paling besar dibanding dua subunit yang lain), β dan γ (ukuran terkecil). G protein terdiri dari beberapa jenis. G protein yang berhubungan dengan reseptor adrenergik terdiri dari tiga jenis, yaitu :

1. G_s : berikatan dengan reseptor β , mengaktifkan adenilil siklase
2. G_q : berikatan dengan reseptor α , mengaktifkan fosfolipase C (PLC)
3. G_i : berikatan dengan reseptor α_2 , menghambat adenilil siklase.

Dalam keadaan inaktif ketiga subunit G protein berikatan satu sama lain membentuk kompleks $G_{\alpha\beta\gamma}$, selain itu subunit α juga berikatan dengan GDP, adenilil siklase dalam keadaan inaktif, reseptor adrenergik bebas (Katzung, 2001).

Bilamana terdapat ligan (misalnya epinefrin) maka epinefrin ditangkap dan diikat oleh reseptor, ikatan ini menimbulkan fosforilasi GDP menjadi GTP, lepasnya subunit α dari kompleks $G_{\alpha\beta\gamma}$, selanjutnya G_α akan berikatan dengan GTP (kompleks G_α -GTP), kompleks G_α -GTP yang terbentuk berikatan dengan adenilil siklase, akibatnya adenilil siklase menjadi aktif sehingga dapat mengubah ATP menjadi cAMP, peningkatan kadar cAMP akan menimbulkan efek pada jaringan. Efek cAMP dapat ditiadakan oleh fosfodiesterase yang mengkonversi cAMP (bentuk aktif) menjadi 5-AMP (inaktif); atau terjadi hidrolisa GTP menjadi GDP, sehingga kompleks G_α -GDP terlepas akibatnya adenilil siklase menjadi inaktif seperti gambar 2.3 (Becker, 1999; Katzung, 2001).



Gambar 2.3 : Mekanisme aktivasi G protein secara umum (Becker, 1999).

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2.2.4 Aktivitas fisiologi epinefrin

Sekresi medula adrenal merupakan bagian integral dari *fight or flight reaction* yang diakibatkan oleh rangsangan sistem saraf simpatik. Persepsi atau peristiwa untuk mengantisipasi keadaan yang membahayakan atau mencemaskan, trauma, nyeri, hipovolemia dari hemoragik atau kehilangan cairan, hipotensi, anoksia, temperatur terlalu tinggi, hipoglikemia, latihan berat, dapat menyebabkan sekresi cepat epinefrin dari medula adrenal. Pada umumnya aktivasi medula adrenal mengikuti aktivasi sistem saraf simpatik yang diakibatkan oleh rangsangan yang intensif (Spereiakis, 1998; Zigmond, 1999; Kanel 2001).

Menurut Ganong (2001) dan Katzung (2001) secara fisiologi epinefrin dapat mempengaruhi proses yang terjadi pada organ tubuh antara lain :

1. meningkatkan tekanan darah
2. meningkatkan aliran darah pada otot-otot yang sedang aktif
3. meningkatkan metabolisme sel
4. meningkatkan kadar glukosa darah
5. meningkatkan glikolisis
6. meningkatkan aktivitas mental
7. meningkatkan agregasi platelet.

Aktivitas epinefrin adalah melalui reseptor yang terdapat pada membran plasma jaringan target, yaitu α_1 , α_2 , β_1 dan β_2 dan β_3 . Reseptor β_1 , β_2 dan α_2 memiliki struktur yang sama, yaitu suatu glikoprotein tunggal dengan BM \pm 64.000. Reseptor α_1 berbeda dengan lainnya, BM 80.000. Reseptor β_1 dan β_2

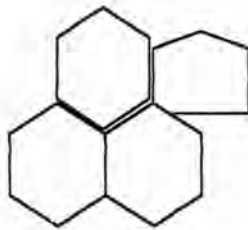
terangkai dengan dan merangsang adenilil siklase, sehingga cAMP yang berperan sebagai *second messenger* untuk memberi efek biologi. Sebaliknya reseptor α_2 menghambat G protein, sehingga terjadi penurunan kadar cAMP (Berne, 1992; Katzung, 2001).

Secara umum bilamana epinefrin berikatan dengan reseptor α , maka epinefrin akan mengaktifkan G protein (Gp) sehingga terbentuk kompleks α -GTP yang selanjutnya akan mengikat fosfolipase C β (PLC β) sehingga (PLC β) menjadi teraktivasi. PLC β aktif akan memecah fosfolipid membran menjadi fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat (PIP₂), PIP₂ akan pecah menjadi inositol-1,4,5-trifosfat (IP₃) dan diasilgliserol (DAG). IP₃ menyebabkan efluks Ca^{2+} dari retikulum endoplasmik ke sitosol sehingga Ca^{2+} sitosol dapat berikatan dengan calmodulin yang dapat menyebabkan kontraksi dari protein kontraktil. DAG mengaktifkan protein kinase C (PKC) sehingga menyebabkan kontraksi pada otot polos dan vasokonstriksi pembuluh darah. Epinefrin yang terikat oleh reseptor adrenergik tipe β akan menyebabkan aktivasi pada G_s (terbentuk kompleks α -GTP), kompleks ini dapat mengaktifkan adenilil siklase sehingga terjadi peningkatan kadar cAMP. (Becker, 1999; Katzung, 2001).

Protrombin merupakan salah satu faktor koagulasi darah yang disintesis di dalam hepar. Sintesis protrombin oleh hepar dipengaruhi oleh beberapa faktor. Epinefrin dapat merangsang hepatosit untuk mensintesis protrombin sehingga dapat meningkatkan jumlah protrombin dalam plasma (Guyton, 2000).

2.3 Kortisol

Hormon yang dikeluarkan oleh korteks adrenal termasuk dalam derivat kolesterol. Seperti halnya kolesterol, asam empedu, vitamin D, steroid ovarium dan testis, hormon korteks adrenal mengandung inti siklopentanoperhidropenantren seperti di bawah :



Gambar 2.4 : Gambaran inti siklopentanoperhidropenantren (Ganong WF, 2001).

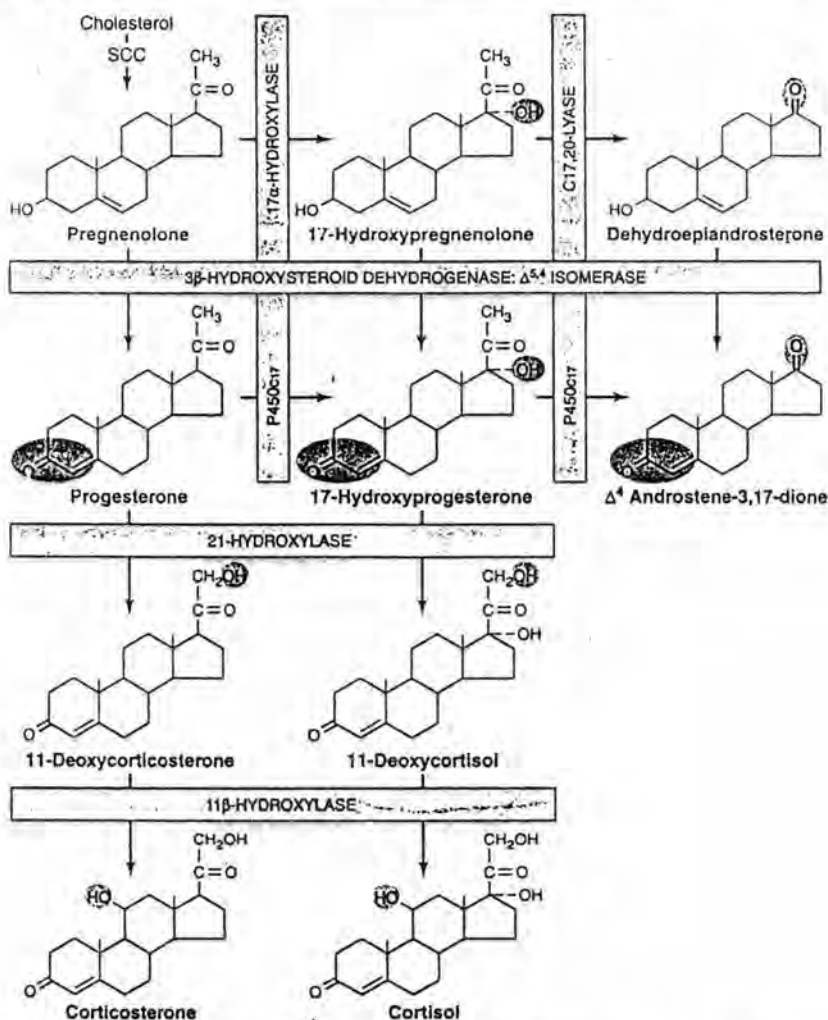
Steroid gonad dan korteks adrenal terdiri dari tiga tipe, yaitu steroid C_{21} - memiliki dua rantai karbon pada posisi ke 17, steroid C_{19} - memiliki gugus keto atau hidroksil pada posisi 18 dan steroid C_{18} - ada tambahan gugus 17-keto atau hidroksil tapi tidak mempunyai gugus metal pada sudut yang melekat pada posisi 10. Korteks adrenal terutama mensekresi C_{21} dan C_{19} . C_{21} mempunyai gugus hidroksil pada posisi 17, oleh karena itu sering disebut 17-hidroksikortikoid atau 17-hidroksikortikosteroid (Ganong, 2001).

C_{19} memiliki aktivitas androgen. C_{19} menurut Selye's (cit Ganong, 2001) terdiri dari mineralokortikoid dan glukokortikoid. Mineralokortikoid terutama memiliki efek reabsorpsi Na^+ dan sekresi K^+ , sedang glukokortikoid mempengaruhi metabolisme glukosa dan protein. Yang termasuk dalam mineralokortikoid adalah aldosteron, kortisol dan kortikosteron termasuk dalam glukokortikoid, sedang hormon androgen meliputi dehidroepiandrosteron (DHEA)

dan androstenedion. Deoksikortikosteron merupakan mineralokortikoid yang normal disekresi dalam jumlah yang sama dengan aldosteron, tapi hanya 3 % efeknya yang mirip aldosteron (Johnson, 1992; Ganong, 2001).

2.3.1 Sintesis kortisol

Johnson (1992) dan Ganong (2001) menyatakan sintesa steroid pada korteks adrenal adalah mineralokortikoid (aldosteron) pada zona glomerulosa; glukokortikoid (termasuk kortisol dan kortikosteron), DHEA dan androstenendion disintesis pada zona fasikulata dan retikularis, seperti skema di bawah :



Gambar 2.5 : Sintesis hormon steroid pada korteks adrenal (Murray, 2000).

2.3.2 Aktivitas fisiologi kortisol

Menurut Cass (1998), kortisol dikeluarkan oleh korteks adrenal melalui kontrol dari ACTH (*adenocorticotropic hormone*) yang dikeluarkan oleh hipotalamus sebagai respon terhadap stres. ACTH dapat menghasilkan (sintesa dan sekresi) kortisol dengan menggunakan cAMP sebagai *second messenger*. Kelenjar adrenal manusia normal mensekresi kortisol 20 mg/hr, kortikosteron 2 µg/hr dan aldosteron 250 µg/hr (Johnson, 1992).

Seperti pada sel kelenjar yang lain, sel yang memproduksi steroid tidak menyimpan hormon steroid. Mulai dari biosintesis hingga sekresi terdapat komponen yang mengatur tahap konversi kolesterol menjadi pregnenolon. Steroid merupakan bahan yang larut lemak, karena itu mudah menembus membran plasma, masuk sirkulasi secara difusi sederhana (Johnson, 1992; Fox, 1999).

Kortisol dapat mempengaruhi proses-proses berikut ini :

1. glukoneogenesis terutama di hati
2. mobilisasi asam amino jaringan ekstrahepatik terutama menuju otot, sehingga asam amino menuju plasma untuk digunakan glukoneogenesis
3. mobilisasi FFA dari jaringan adiposa sehingga FFA plasma meningkat untuk oksidasi asam lemak
4. stabilisasi lisosom dan anti inflamasi, sehingga terjadi penurunan permeabilitas kapiler, penurunan migrasi leukosit ke jaringan inflamasi, penurunan sistem imun (limfosit T, antibodi, IL-1 dari leukosit atau monosit)
5. umpan balik negatif dengan HPA axis sehingga terjadi inhibisi pada hipotalamus – CRH menurun, inhibisi pada adenohipofise – ACTH menurun
6. meningkatkan agregasi platelet.

Kortisol dapat menyebabkan katabolisme protein sehingga asam amino dalam darah meningkat. Peningkatan asam amino plasma dapat meningkatkan mobilisasi asam amino menuju hepar sehingga terjadi peningkatan sintesis protein. Fibrinogen merupakan salah satu protein plasma yang berperan dalam hemostasis yang disintesis oleh hepatosit. Stres kortisol menyebabkan peningkatan sintesis fibrinogen sehingga fibrinogen plasma juga meningkat.

2.4 Koagulasi (penjendelan) darah

Hemostasis dapat diartikan sebagai proses untuk menanggulangi terjadinya perdarahan atau mencegah hilangnya darah sehingga dapat mempertahankan volume darah pada sistem vaskular (Fox, 1999; Ganong, 2001). Menurut Guyton (2000) dan Vander (2001) bila terjadi kerusakan/ruptur pembuluh darah, maka akan terjadi peristiwa hemostasis sebagai berikut :

1. spasme pembuluh darah
2. pembentukan *platelet plug*
3. pembentukan jendal darah
4. pertumbuhan jaringan ikat dan penutupan celah.

1. Spasme pembuluh darah

Segera setelah pembuluh darah ruptur, maka rangsangan (trauma) ini menyebabkan dinding pembuluh darah berkontraksi, sehingga aliran darah yang menuju pembuluh yang ruptur menurun. Kontraksi ini ditimbulkan oleh refleks saraf, spasme miogenik lokal dan faktor humoral lokal dari jaringan yang trauma dan platelet. Refleks saraf diinisiasi oleh nyeri atau impuls lain yang berasal dari

berasal dari pembuluh yang trauma atau jaringan terdekat. Namun sebagian besar kontraksi ini disebabkan spasme miogenik lokal yang diinisiasi oleh kerusakan langsung dinding pembuluh darah. Pembuluh darah yang lebih kecil lebih bertanggung jawab untuk berkonstriksi karena dilepaskannya bahan vasokonstriktor tromboxan A₂ (TXA₂) (Guyton, 2000; Vander, 2001).

2. Pembentukan *platelet plug*

Bila terjadi trauma pada pembuluh darah, maka platelet akan bergerak menuju daerah yang ruptur untuk berkontak dengan permukaan pembuluh yang rusak yang mengandung bahan-bahan seperti serabut-serabut kolagen maupun sel-sel endotel, dan karakteristik platelet akan berubah dengan cepat. Dimulai dengan pembengkakan, berubah bentuk menjadi ireguler dengan beberapa pseudopodi menonjol dari permukaan platelet, kemudian protein kontraktilnya akan berkontraksi secara maksimal, diikuti reaksi pelepasan granula yang mengandung sejumlah bahan aktif, kemudian platelet-platelet tersebut konsistensinya menjadi kenyal-lengket (*sticky*) sehingga dapat melekat pada serabut-serabut kolagen.

Diantara bahan yang disekresi pada reaksi pelepasan adalah ADP dalam jumlah besar dan enzim-enzim yang ada pada platelet akan membentuk TXA₂ (juga masuk sirkulasi). TXA₂ dapat mengaktifkan *additional platelets* untuk bergabung dengan *originally activated platelets*. Kerusakan pada dinding pembuluh darah atau jaringan ekstravaskular menimbulkan siklus cepat untuk meningkatkan jumlah platelet secara progresif yang mana platelet-platelet ini sendiri akan menarik lebih banyak lagi *additional platelets* yang selanjutnya akan membentuk *platelet plug* (Lee, 1999; Guyton, 2000).

3. Pembentukan jendal darah, pertumbuhan jaringan ikat dan penutupan celah

Jendal darah mulai terbentuk 15-20 detik bila trauma yang terjadi cukup besar, namun bila kerusakan relatif kecil maka dibutuhkan waktu 1-2 menit. Bahan-bahan aktivator, baik dari dinding pembuluh darah yang trauma, platelet maupun protein darah yang terletak berdekatan dengan pembuluh yang rusak akan menginisiasi proses penjendalan. Setelah 3-6 menit setelah rusak, bila dinding pembuluh darah yang terbuka tidak terlalu lebar, maka seluruh bagian pembuluh akan diisi oleh jendal darah. Setelah 20 menit hingga 1 jam, jendal darah mengalami retraksi untuk menutup daerah yang terbuka (Guyton, 2000; Ganong, 2001).

Terdapat lebih dari 50 jenis bahan-bahan yang penting untuk koagulasi darah telah ditemukan di dalam darah dan jaringan, yang bersifat merangsang koagulasi disebut prokoagulan dapat dilihat pada tabel 2.2, sedang yang menghambat koagulasi disebut antikoagulan. Normal antikoagulan terdapat dalam jumlah yang lebih banyak, untuk mencegah agar darah tidak menggumpal. Bila terjadi ruptur pembuluh darah, maka prokoagulan pada daerah yang rusak akan menjadi aktif dan menjadi dominan dibanding antikoagulan, sehingga dapat terbentuk jendal darah (Guyton, 2000).

Tabel 2.2 : Faktor-faktor koagulasi darah (Ganong, 2001).

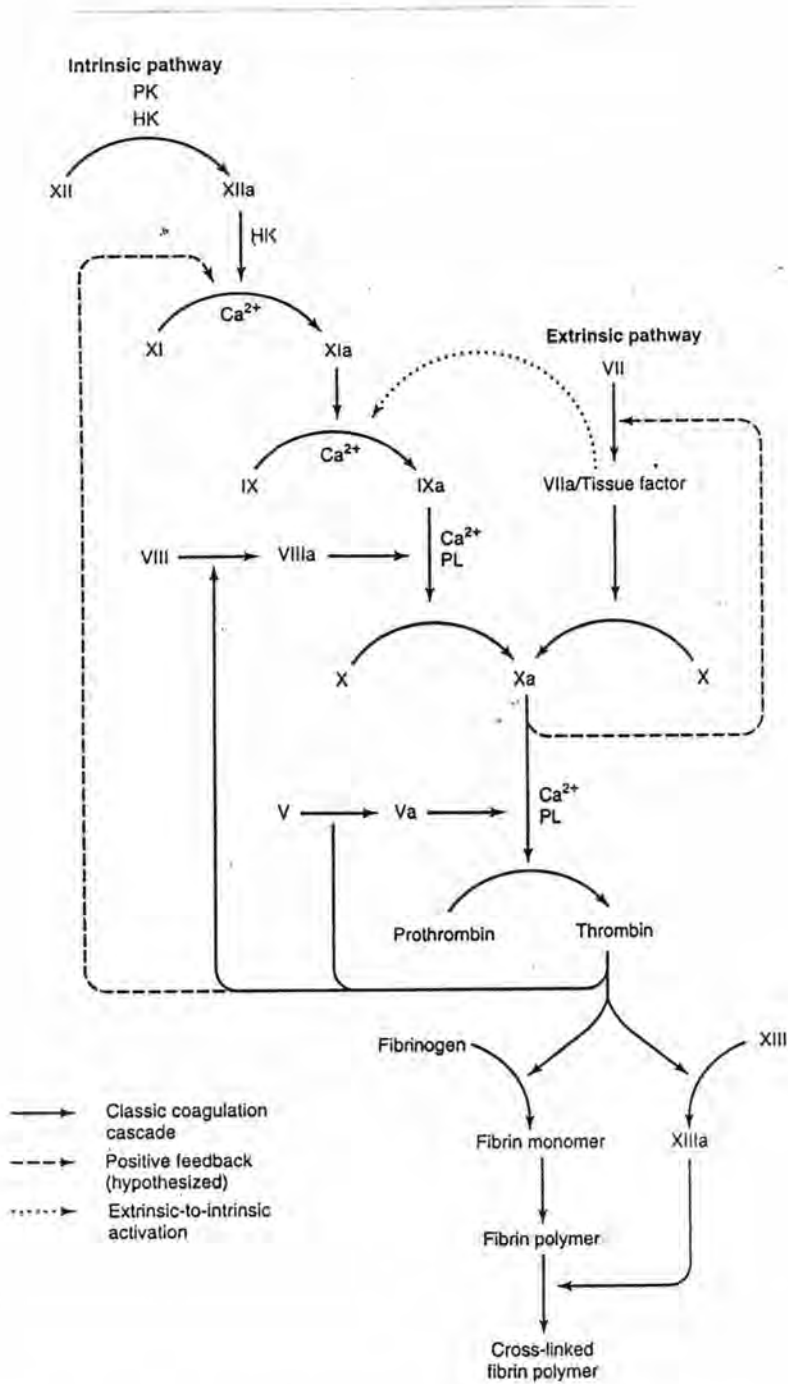
Faktor	Sinonim	Konsentrasi plasma ($\mu\text{g/dl}$)
I	Fibrinogen	3000
II	Protrombin	100
III	Tromboplastin, faktor jaringan	4,7
IV	Ca^{2+}	
V	Proaccelerin, <i>labile factor</i> , <i>accelerator globulin</i>	10
VII	Proconvertin, <i>stable factor</i> , <i>serum protrombin conversion accelerator (SPCA)</i>	0,5
VIII	<i>Antihemophilic factor (AHF)</i> , <i>antihemoglobin (AHG)</i> , <i>antihemophilic factor A</i>	0,1
IX	<i>Plasma tromboplastin component (PTC)</i> , <i>christmas factor</i> , <i>antihemophilic factor B</i>	5
X	<i>Stuart factor</i> , <i>Stuart-Prower factor</i>	10
XI	<i>Plasma tromboplastin antecedent (PTA)</i> , <i>antihemophilic factor C</i>	5
XII	<i>Hageman factor</i> , <i>glass factor</i>	30
XIII	<i>Fibrin stabilizing factor</i> , <i>Laki-Lorand factor</i>	30
HMW-K	<i>High-molecular-weight kininogen</i> , <i>Fitzgerald factor</i>	100
Pre-Ka	<i>Prekallikrein</i> , <i>fletcher factor</i>	40
Ka	Kallikrein	
PL	Platelet fosfolipid	$(150-400)10^3/\mu\text{l}$

Mekanisme umum dari pembentukan bekuan darah adalah sebagai berikut (Fox, 1999):

1. terbentuk aktivator protrombin
2. aktivator protrombin mengkatalisis konversi protrombin menjadi trombin
3. trombin (sebagai enzim) mengubah fibrinogen menjadi serabut-serabut fibrin yang menjerat platelet, sel darah dan plasma untuk membentuk jendal darah.

Beberapa menit setelah terbentuknya jendal darah, jendal darah akan kontraksi dan pada umumnya akan keluar cairan dari jendal darah selama 20-60 menit. Cairan ini disebut serum, berbeda dengan plasma serum tidak dapat membentuk jendal darah karena kekurangan beberapa faktor koagulasi. Platelet penting untuk terjadinya *clot retraction*, sehingga kegagalan *clot retraction* mengindikasikan jumlah platelet pada sirkulasi rendah. EMG platelet pada bekuan darah menunjukkan bahwa platelet-platelet ini melekat pada serabut-serabut fibrin. Platelet yang terjerat pada jendal darah akan menyebabkan dilepaskannya faktor-faktor prokoagulan, salah satunya adalah *fibrin stabilizing factor* yang mendukung terjadinya lebih banyak lagi *cross-linking* antara serabut-serabut fibrin yang berdekatan (Fox, 1999; Guyton, 2000).

Secara skematis pembentukan jendal darah melalui jalur ekstrinsik dan intrinsik dapat dilihat pada gambar di bawah :



Gambar 2.6 : Jalur intrinsik dan ekstrinsik pada hemostasis (Murray, 2000).

Platelet memiliki kontribusi secara langsung terhadap retraksi jendal darah dengan cara mengaktivasi trombostenin, aktin dan miosin platelet (yang masing-masing merupakan protein kontraktif platelet) sehingga terjadi kontraksi yang kuat dari platelet untuk melekat pada fibrin. *Fibrin stabilizing factor* juga membantu menekan serabut fibrin sehingga dapat menjadi massa dengan ukuran yang lebih kecil. Kontraksi diaktivasi atau diaselerasi oleh trombin dibantu Ca^{2+} yang dilepaskan dari tempat simpanan di mitokondria, *dense tubular system* dan Golgi apparatus dari platelet (Guyton, 2000; Vander, 2001).

2.4.1 Platelet

Sel-sel platelet (disebut juga trombosit) berukuran kecil, berbentuk lempengan tanpa inti dengan diameter 2-4 μm . Platelet berperan pada hemostasis dan mekanisme pertahanan tubuh. Pertambahan jumlah platelet melalui *budding* dari sitoplasma progenitornya, yaitu megakariosit yang merupakan sel poliploid berukuran besar dengan 4, 8, atau 16 inti. Megakariosit berasal dari *primitive hematopoietic stem cell*. Pada usia dewasa normal, megakariosit hampir secara keseluruhan hanya terdapat pada sum-sum tulang. Pada bayi yang baru lahir dan pada dewasa dalam keadaan patologi, selain di sum-sum tulang, megakariosit juga ditemukan pada liver, paru dan organ yang lain. Proses pematangan megakariosit untuk menjadi platelet membutuhkan waktu 4-5 hari, dan 1 megakariosit akan membentuk 1000-1500 platelet (Italiano, 1999; Ganong, 2001).

Normal jumlah platelet dalam darah adalah 150.000-400.000/ μ l darah. Tidak semua platelet ini beredar dalam sirkulasi, sekitar sepertiga berada di tempat lain, khususnya di limpa. Masa hidup platelet adalah 8-12 hari dengan waktu paruh 4 hari. Selanjutnya platelet yang sudah tua atau rusak akan dipindah dari sirkulasi melalui sistem retikuloendotelial (Johnson, 1992; Borne, 1998).

2.4.1.a Struktur dan fungsi platelet

Platelet merupakan sel yang memiliki sejumlah fungsi spesifik pada beberapa sel, meski sel ini tidak memiliki inti dan tidak dapat bereproduksi (Guyton, 2000). Platelet memiliki cincin mikrotubul yang melingkari bagian luar tubuhnya dan membran yang meluas dan berinvaginasi dengan sistem canaliculi yang memiliki kontak dengan cairan ekstrasel. Membran sel mengandung reseptor untuk kolagen, von Willebrand factor (vWf) dan fibrinogen. Menurut Camacho (2000) dan Gear (2001) sitoplasmanya mengandung faktor-faktor aktif, seperti :

1. molekul aktin dan miosin (sama dengan pada sel otot)
2. protein kontraktil lain, yaitu trombostenin (menyebabkan platelet berkontraksi)
3. *dense granule*, mengandung bahan nonprotein yang disekresi sebagai respon terhadap aktivasi platelet (termasuk serotonin, ADP, ATP, Ca^{2+} dan pirofosfat)
4. α granul, mengandung :

a. protein platelet spesifik :

* *platelet factor 4* (PF 4)

* β thromboglobulin family (merupakan protein dasar platelet yang

memiliki afinitas rendah terhadap PF 4, terdiri dari β -thromboglobulin

dan β - thromboglobulin F)

b. multimerin

c. glikoprotein adesif :

* fibrinogen

* trombospondin

* vWf

* vitronectin

* fibronectin

d. faktor koagulasi : faktor V dan faktor XI

e. faktor mitogenik : PDGF (*platelets derived growth factor*)

TGF- β (*tumor growth factor- β*)

ECGF (*endotelial cell growth factor*)

EGF (*epidermal growth factor*).

f. *fibrinolytic inhibitors* : $\alpha 2$ plasmin inhibitor

plasminogen activator inhibitor-1

g. albumin

h. imunoglobulin

i. membran associated protein :

*P-selectin (CD 62P)

*GMP 33

*osteonectin

*24-kD GTP binding protein

*GP IV (CD 36)

j. protein lain :

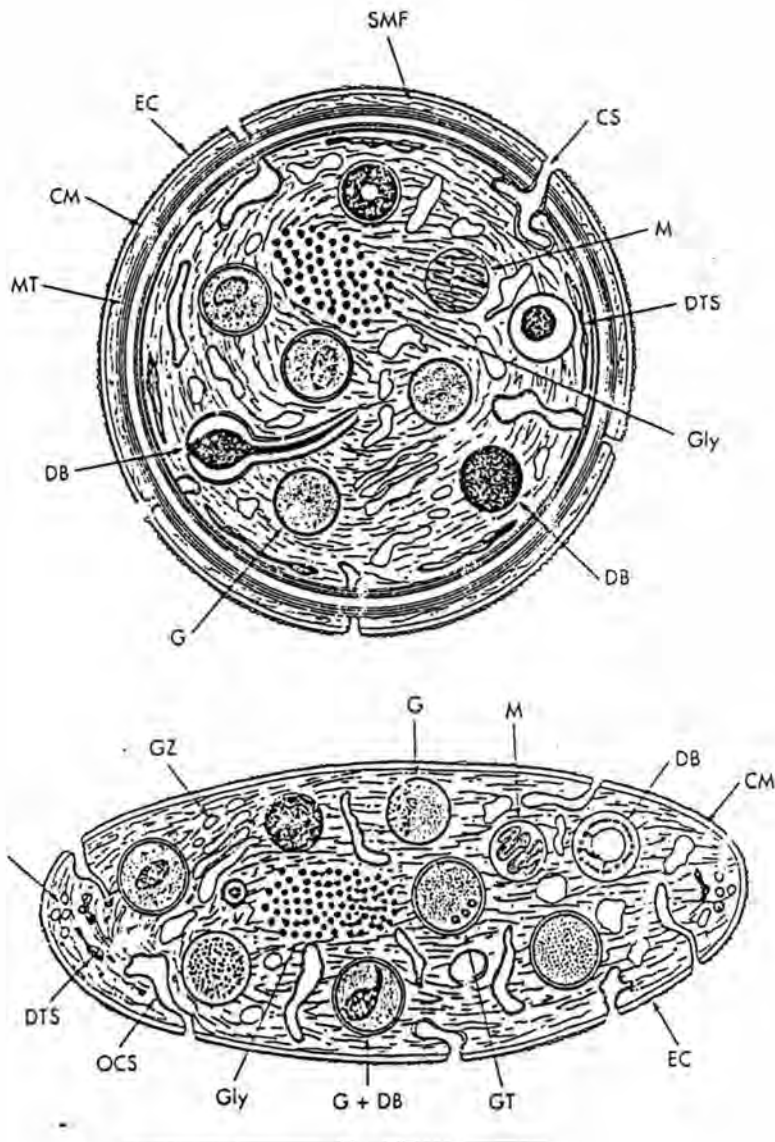
protease nectin I, faktor XII, peptidase, HMW- kininogen, *amyloid β -protein precursor* (protease nectin II), *tissue factor pathway inhibitor*

5. endoplasmik retikulum dan Golgi apparatus, yang mensintesa beberapa enzim dan menyimpan sejumlah besar Ca^{2+}
6. mitokondria dan enzimnya yang dapat membentuk ATP dan ADP
7. enzim yang dapat mensintesa prostaglandin, hormon lokal yang dapat mengakibatkan reaksi pada pembuluh darah dan jaringan lokal
8. protein penting koagulasi darah, *fibrin-stabilizing factor* (f. XIII).

Chow (1992) dan Bonnefey (2000) menambahkan bahwa selain yang tersebut di atas *dense granule* juga mengandung serotonin, katekolamin dan vasopressin.

Platelet berperan dalam proses hemostasis, yaitu dalam pembentukan platelet plug juga dalam pembentukan fibrin karena platelet mengandung faktor XIII (*fibrin stabilizing factor*).

Berikut ini adalah gambaran struktur dari platelet :



Gambar 2.7 : Struktur platelet (Katzung, B.G., 2001). *EC* (exterior coat), *CM* (trilamellar unit membrane), *SMF* (submembrane filament), *CS* (canalicular system), *MT* (microtubules), *Gly* (glycogen), *M* (mitochondria), *G* (granule), *DB* (dense bodies), *GT* (α -granules), *OCS* (open canalicular system), *DTS* (dense tubular system), *GZ* (Golgi apparatus).

2.4.1.2 Reseptor platelet

Menurut Beutler (1999) dan Bonnefey (2000), terdapat beberapa protein pada permukaan membran platelet yang berperan sebagai reseptor, yaitu :

1. famili integrin :
 - a. reseptor fibrinogen, nama lain : GP IIb/IIIa
 - b. reseptor kolagen, nama lain : GP Ia/Iia
 - c. reseptor fibronektin, nama lain : GP Ic/IIa
 - d. reseptor laminin, nama lain : GP Ic/Iia
 - e. reseptor vitronectin, nama lain : αv /GP IIIa.
2. famili glikoprotein kaya leusin :

nama umum : reseptor vWf, nama lain : GP Ib/IX
3. *immunoglobulin cell adhesion molecules* :
 - a. PECAM-I
 - b. Fc γ -R II
 - c. HLA-Class I
 - e. ICAM-2
4. selectin, nama umum P-selectin
5. quadraspanin, nama umum p24
6. Miscellaneous, nama umum :

*GP IV	*sialoporin
*lamp 3 (granulophysin)	*lamp 1
*leukosialin	*lamp 2
*67 kD laminin reseptor	

7. yang terikat pada G protein : reseptor trombin

reseptor TXA₂

reseptor α_2 -adrenergik

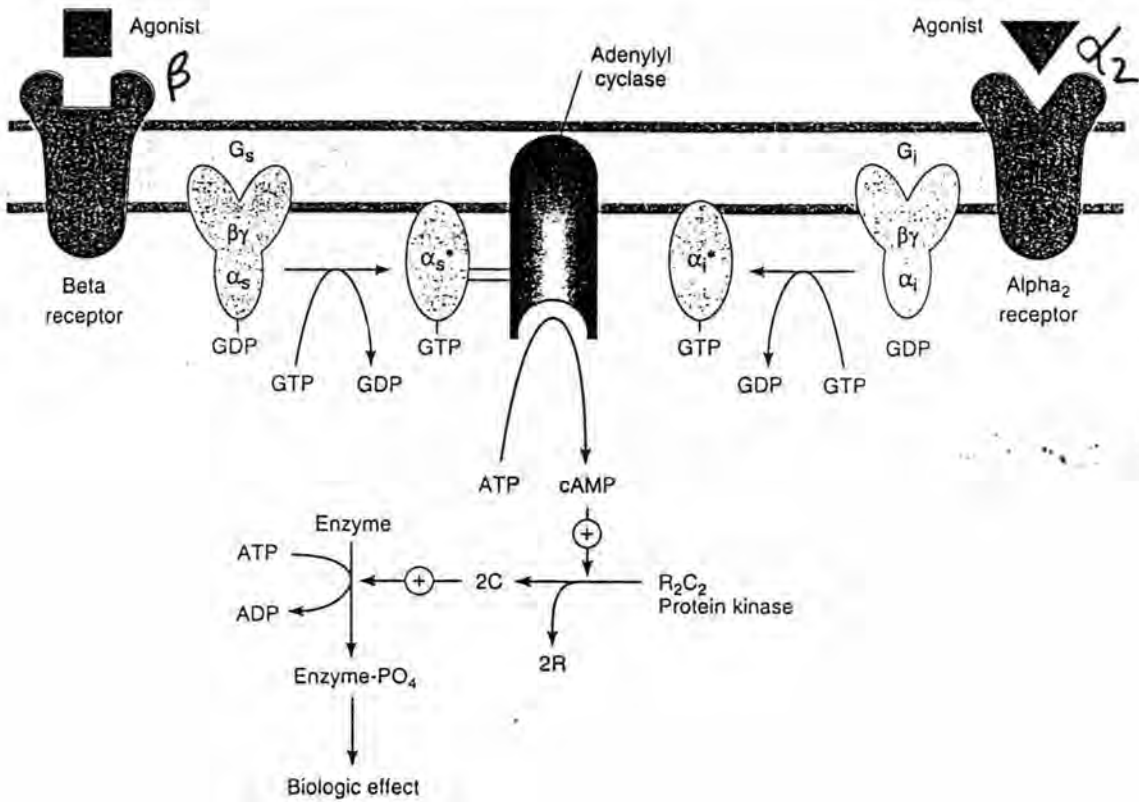
reseptor vasopressin.

2.4.1.3 Reseptor adrenergik pada platelet

Menurut Katzung (2001), aktivitas reseptor α_2A adalah melalui G protein jenis G_i (*inhibitory regulatory protein*) yang dapat menghambat adenilil siklase. Bagaimana mekanismenya belum diketahui secara pasti, namun diduga melalui mekanisme berikut :

ikatan antara ligan (epinefrin) dan reseptor α_2A menyebabkan fosforilasi GDP menjadi GTP, akibatnya subunit α dari G_i (α_i) terlepas dari kompleks $G_{i\alpha\beta\gamma}$ dan GDP, selanjutnya :

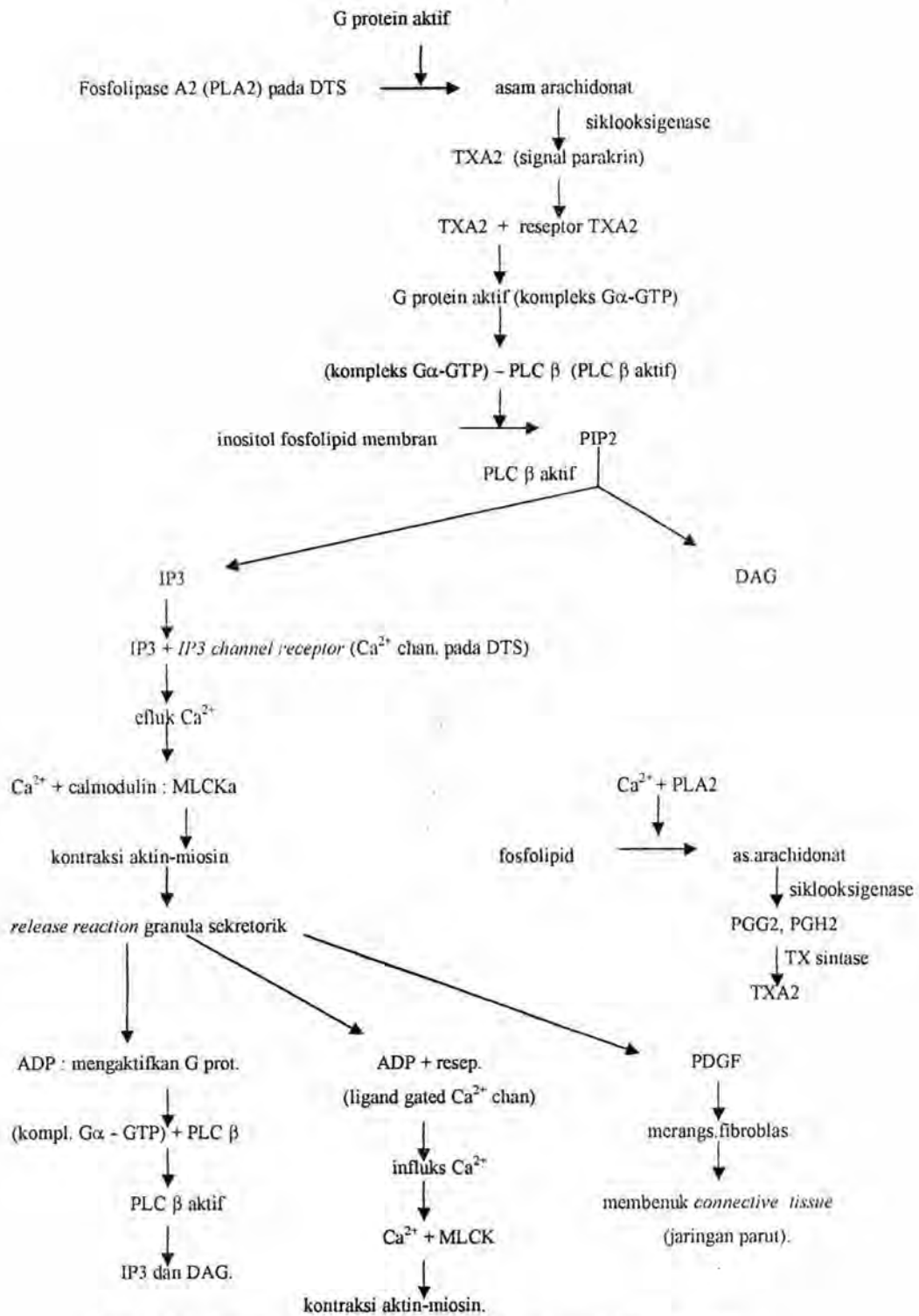
1. α_i berikatan dengan GTP membentuk kompleks $\alpha_i - GTP$, kompleks ini akan menghambat adenilil siklase secara langsung, akibatnya akan terjadi penurunan cAMP dan merangsang terjadinya agregasi platelet.
2. subunit β dan γ dari G_i yang terlepas dari α_i akan berikatan dengan subunit α dari G_s (α_s) yang terikat dengan GTP (kompleks $\alpha_s - GTP$) sehingga terbentuk kompleks $(\beta\gamma)_i - \alpha_s - GTP$. Kompleks $(\beta\gamma)_i - \alpha_s - GTP$ tentunya akan menghambat ikatan $\alpha_s - GTP$ dengan adenilil siklase sehingga adenilil siklase menjadi inaktif, terjadi penurunan cAMP dan merangsang agregasi platelet.



Gambar 2.8 : Aktivitas adreseptor α_2 melalui G protein jenis G_i (Katzung, 2001).

2.4.1.4 Aktivasi dan agregasi platelet

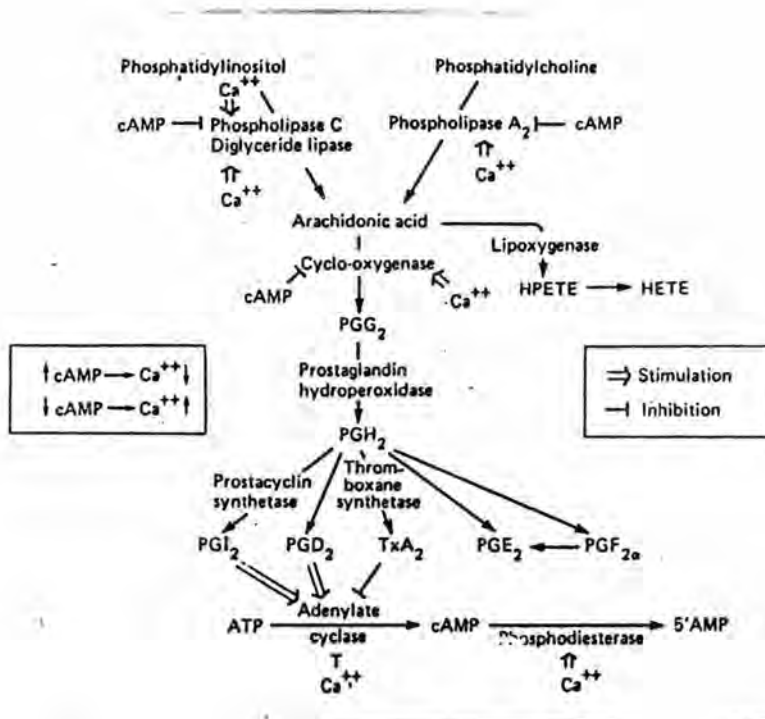
Menurut Becker (1999) dan Shapiro (1999), G protein yang diaktivasi oleh reseptor adrenergik α secara umum adalah G_p atau G_q , yang mana G_p atau G_q nantinya akan merangsang fosfolipase C (PLC) sehingga terjadi peningkatan kadar cAMP. Bila terjadi trauma atau ruptur pembuluh darah, maka kolagen akan terekspose pada dinding pembuluh darah. Selanjutnya kolagen akan diikat oleh reseptor kolagen pada membran platelet, berikutnya kolagen akan terikat reseptor kolagen akan mengikat G protein sehingga G protein menjadi aktif (subunit α berikatan dengan GTP atau terbentuk kompleks $G\alpha$ -GTP). Proses selanjutnya seperti skema di bawah :



Gambar 2.9 : Skema peran G protein pada aktivasi platelet (Becker, 1999; Shapiro, 1999).

Peristiwa yang pertama kali terjadi saat platelet dirangsang oleh berbagai bahan adalah perubahan bentuk dari *disc* menjadi *spiculated sphere*, proses ini melibatkan elemen kontraktile pada platelet. Agregasi bisa bersifat reversibel atau irreversibel, tergantung intensitas rangsangan. Agregasi tentunya dimulai dengan mekanisme sekresi (Cass, 1998; Lee, 1999).

Saat platelet mendapat rangsangan, misalnya oleh trombin atau kolagen dinding pembuluh darah, maka asam arachidonat akan dilepaskan dari fosfolipid membran plasma platelet melalui aktivitas Ca^{2+} dari *enzim Ca^{2+} -dependent phospholipase* dan *gliseride lipase*. Tahap reaksi berikutnya dapat dilihat pada skema di bawah.



Gambar 2. 9 : Tahapan pembentukan prostaglandin dan tromboksan pada platelet (Bowie, 1995).

PGG₂ dan PGH₂ merupakan jenis prostaglandin yang labil; PGE₂, PGD₂ dan PGF_{2α} merupakan prostaglandin yang stabil (tapi tidak menyebabkan agregasi platelet); TxA₂ juga tidak stabil cepat berubah menjadi TxB₂ (stabil) namun aktivitas TxB₂ masih belum diketahui. TxA₂ merupakan agen poten untuk agregasi platelet. PGD₂ menghambat agregasi dengan cara merangsang adenilil siklase platelet, cAMP meningkat akibatnya mengganggu fungsi platelet. PGE₂ pada kadar rendah akan meningkatkan sekresi dan agregasi platelet, namun pada kadar yang tinggi menghambat. PGF_{2α} sedikit menghambat aktivasi platelet. Pada endotel pembuluh darah, oksidasi asam arachidonat menghasilkan PGI₂ (labil), menyebabkan hambatan kuat terhadap agregasi platelet dengan cara mengaktifkan adenilil siklase dan meningkatkan kadar cAMP platelet. PGI₂ dihidrolisa secara spontan menjadi 6-keto PGF_{1α} yang merupakan senyawa stabil namun inaktif (Bowie, 1995; Vander, 2001).

Fosfodiesterase dan adenilil siklase dapat dikatakan mengatur kadar cAMP platelet, fosfodiesterase diaktivasi oleh Ca²⁺, sedangkan adenilil siklase dihambat oleh Ca²⁺. Peningkatan cAMP dapat menurunkan Ca²⁺ sitoplasma, mungkin melalui rangsangan terhadap cAMP-dependent Ca²⁺ pump. PGG₂ dan TxA₂, menghambat adenilil siklase dengan cara meningkatkan kadar Ca²⁺, melalui peningkatan pelepasan Ca²⁺ dari *storage site* atau meningkatnya transport Ca²⁺ melalui saluran Ca²⁺ (Bowie, 1995).

Protein kontraktile platelet, aktin dan miosin, terlibat pada perubahan bentuk platelet, juga tergantung pada Ca²⁺. Adhesi dan agregasi platelet membutuhkan Ca²⁺ ekstrasel. Reaksi sekresi platelet dimediasi oleh peningkatan Ca²⁺ sitoplasma platelet, peningkatan Ca²⁺ sitoplasma dapat terjadi karena

dikeluarkannya Ca^{2+} dari *storage site* atau meningkatnya permeabilitas membran terhadap Ca^{2+} sehingga terjadi influx Ca^{2+} . *Storage site* Ca^{2+} antara lain mitokondria, *dense tubular system*, atau membran plasma binding site (Bowie, 1995).

Proses agregasi platelet membutuhkan fibrinogen sebagai kofaktor. Reseptor fibrinogen terdapat pada permukaan platelet, memungkinkan *long dumb bell shape molecule* untuk membentuk bridge pada gap antara platelet yang berdekatan untuk membentuk *platelet aggregate*. Proses adesi platelet (dengan platelet lain atau kolagen) membutuhkan vWf reseptor (GP Ib) sedangkan untuk agregasi membutuhkan reseptor fibrinogen (Shapiro, 1999; Guyton, 2000).

2.5 Peran epinefrin dan kortisol pada agregasi platelet

Aktivitas platelet merupakan tahap penentu suatu hemostasis, aktivitas platelet diatur oleh faktor-faktor, seperti trombin, adenin nukleotida (ADP), epinefrin, PGI_2 juga kolagen. Sebagian besar agen tersebut berinteraksi dengan G protein yang ditangkap oleh reseptornya pada membran plasma platelet (Swenson, 1993; Spalding, 1998; Katzung, 2001).

Holmsen (1994) mengklasifikasikan agonis platelet berdasar kemampuannya dalam merangsang agregasi platelet, epinefrin dan ADP adalah agonis lemah, sedang trombin adalah agonis kuat. Epinefrin dikatakan tidak menginduksi, sebaliknya ADP dan trombin mendukung peningkatan Ca^{2+} dan agregasi platelet (Holmsen, 1994; Kanel, 2001; Nillson, 2002).

Beautler (1999) mengklasifikasikan aktivator platelet berdasar kemampuannya, yaitu :

1. aktivator kuat : * adesi dengan kolagen
 - * trombin
 - * kolagen konsentrasi tinggi (invitro)
2. aktivator lemah : * ADP
 - * epinefrin
 - * TXA₂, PGH₂
 - * serotonin
 - * PAF
 - * vasopressin.
3. aktivator lain : * *shear rate*
 - * bahan trombolitik (plasmin).

Respon fungsional pertama bila platelet teraktivasi adalah terjadi perubahan bentuk dari *discoid* menjadi *sphere*, pseudopodia dan permukaan membrannya melipat. Selain itu agregasi platelet juga tergantung pada protein adesif seperti fibrinogen yang berasal dari α granul. (Nillson, 2002). Namun bila aktivator platelet yang lemah digabung, tetap dapat menginduksi agregasi yang ireversibel (Kobilka, 1987).

Efek epinefrin pada platelet dimediasi oleh interaksinya dengan α_2 *adrenergic receptor* (α_2 AR) (Banga, 1996; Katzung, 2001). α_2 AR pertama ditemukan pada platelet manusia pada 1987, meski ternyata pada saat ini platelet juga mengekspresikan β AR (Kobilka, 1987; Becker, 1999). Epinefrin dapat

meningkatkan agregasi platelet terutama diinduksi oleh autocooids lainnya (Steen, 1993), namun peningkatan agregasi platelet oleh epinefrin bersifat individual (Freeman, 1995). Studi yang dilakukan oleh Nakamura (1997) terhadap platelet yang sensitif dan tidak sensitif terhadap epinefrin, ternyata terjadi penurunan $\alpha 2AR$ (menurun 50% dari normal) pada 16% populasi. Wang (1997) menyatakan bahwa epinefrin tidak langsung menyebabkan agregasi platelet, namun memiliki potensi mempengaruhi trombin melalui interaksi dengan $\alpha 2AR$. Rangsangan pada $\alpha 2AR$ dapat menyebabkan aktivasi pada G protein jenis G_i , sehingga menurunkan aktivitas adenilil siklase yang pada akhirnya menurunkan kadar cAMP (Spalding, 1998; Katzung, 2001). Selain itu aktivitas epinefrin dalam mempengaruhi agregasi platelet juga tergantung pada kadar Ca^{2+} (Nillson, 2002).

Pengaruh kortisol pada agregasi platelet karena adanya hambatan terhadap enzim fosfolipase A2 sehingga menghambat pembentukan asam arachidonat. Reaksi selanjutnya, yaitu terbentuknya TxA_2 (agen poten untuk agregasi platelet) juga terhambat, namun bahan-bahan yang mengganggu agregasi platelet seperti PGD_2 , dan PGI_2 serta $PGF_{2\alpha}$ juga tidak terbentuk. TxA_2 merupakan agen poten untuk agregasi platelet. PGD_2 menghambat agregasi dengan cara merangsang adenilil siklase platelet, cAMP meningkat akibatnya mengganggu fungsi platelet. PGE_2 pada kadar rendah akan meningkatkan sekresi dan agregasi platelet, namun pada kadar yang tinggi menghambat. $PGF_{2\alpha}$ sedikit menghambat aktivasi platelet (Bowie, 1995; Vander, 2001).

Pada endotel pembuluh darah, oksidasi asam arachidonat menghasilkan PGI_2 (labil), menyebabkan hambatan kuat terhadap agregasi platelet dengan cara mengaktifkan adenilil siklase dan meningkatkan kadar cAMP platelet. PGI_2

dihidrolisa secara spontan menjadi 6-keto PGF_{1α} (stabil dan inaktif) (Bowie, 1995).

Stres fisik dan mental dapat merangsang pengeluaran hormon stres, yaitu katekolamin dan kortisol. Berdasar penelitian yang dilakukan oleh Franz (1985) dan Seelig (1994) pada atlet lari sprint bahwa kortisol dapat menurunkan kadar magnesium plasma dan meningkatkan kadar Ca²⁺ plasma. Menurut Patel (2001) dan Esplugues (2002), reseptor N-metil-D-aspartat (NMDA) dapat mengaktivasi nitric oxide synthase (NOS) untuk membentuk nitric oxide (NO). Terdapat 3 jenis NOS, yaitu nNOS (terdapat pada neuron, NOS tipe I), eNOS (terdapat pada endotel pembuluh darah, NOS tipe III) dan iNOS (inducible NOS, calcium independent cytokine-induced isoform, terdapat pada makrofag, NOS tipe II).

Reseptor glutamat terdiri dari dua tipe, yaitu *metabotropic receptor* dan *ionotropic receptor*. *Metabotropic receptor* terdiri dari reseptor-reseptor yang bekerja dengan cara mengaktivasi G protein sehingga merangsang terbentuknya IP3 (inositol-3-fosfat) dan diasilgliserol (DAG). *Ionotropic receptor* dapat berupa *ligand gate ion channel* yang berhubungan dengan reseptor kolinergik nikotik, GABA dan reseptor glisin. Secara umum *ionotropic receptor* dapat dibagi menjadi tiga tipe, yaitu reseptor kainate, *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor* (AMPA) dan NMDA (Ganong, 2004; Esplugues, 2002).

Reseptor kainate tersusun atas 5 subunit, reseptor AMPA tersusun atas 4 subunit, dan reseptor NMDA tersusun atas 6 subunit. Reseptor kainate dan AMPA merupakan saluran ion sederhana, bila saluran ion ini terbuka menyebabkan influk Na⁺ yang diikuti dengan efluk K⁺. Reseptor NMDA merupakan saluran kalsium,

mempunyai *transmitter gated channel* dan *voltage gate channel*, dalam keadaan *resting membrane potential* (RMP) NMDA diblok oleh Mg^{2+} . Melalui *transmitter gated channel*, saluran kalsium terbuka bila terdapat glutamat atau bahan lain yang memiliki struktur kimia yang sama dengan glutamat/glisin seperti kainate, AMPA, NMDA, agonis NMDA (quisqualate), monosodium glutamat (reseptor umami di lidah), sedang neurosteroid yang mempunyai struktur yang sama dengan glutamat adalah kortisol. *Voltage gated channel* akan terbuka bila terdapat depolarisasi sehingga akan meningkatkan potensial membran reseptor. Reseptor kainate dan AMPA dapat ditemukan pada neuron dan sel glia, sedang NMDA hanya terdapat pada neuron (Anonim, 2003; Ganong, 2004).

Menurut (Johnston, 2000; Esplugues, 2002; Anonim, 2003), pengaruh kortisol terhadap agregasi platelet adalah melalui NMDA. Kortisol dapat merangsang NMDA, rangsangan pada NMDA dapat mengaktivasi eNOS sehingga dapat mengkatalisir pembentukan NO dari L-arginin. NO yang terbentuk selanjutnya berikatan dengan guanilil siklase, ikatan ini menyebabkan aktifnya cGMP pada endotel pembuluh darah sehingga terjadi penurunan Ca^{2+} endotel dan peningkatan Ca^{2+} plasma.

Peningkatan kadar Ca^{2+} plasma menyebabkan gradien konsentrasi Ca^{2+} plasma dan platelet menjadi meningkat, akibatnya merangsang terbukanya Ca^{2+} *leak channel* pada membran platelet (Katzung, 2001). Terbukanya Ca^{2+} *leak channel* pada membran platelet menyebabkan influks Ca^{2+} ke dalam platelet, Ca^{2+} yang masuk akan berikatan dengan PLA2 untuk membentuk asam arachidonat, dengan bantuan enzim siklooksigenase asam arachidonat diubah menjadi endoperoksidase PGG2 dan PGH2 yang selanjutnya akan diubah menjadi TXA2

oleh tromboksan sintase, TXA₂ mengalami eksositosis dan berperan sebagai signal parakrin untuk mengaktifkan platelet sekitarnya dengan jalan berikatan dengan reseptor TXA₂ yang terdapat pada permukaan membran platelet sehingga akan mengaktifkan G protein. G protein yang aktif berikatan dengan PLC β sehingga PLC β menjadi aktif, aktifnya PLC β merangsang pembentukan IP₃ dan DAG. IP₃ merangsang kontraksi aktin-miosin sehingga platelet mengeluarkan pseudopodi seka/igus merangsang reaksi pelepasan. Bahan-bahan yang dikeluarkan pada saat reaksi pelepasan seperti ADP, Ca²⁺ dapat mengaktifkan platelet yang ada di sekitarnya sehingga merangsang agregasi platelet (Becker, 1999; Shapiro, 1999; Nillson, 2002).

2.6 Jumlah platelet dan waktu protrombin

Protrombin merupakan salah satu faktor koagulasi yang disintesis oleh hepar. Protrombin berperan dalam pembentukan trombin. Waktu yang dibutuhkan untuk membentuk benang-benang fibrin dapat diukur dengan waktu protrombin, selain itu waktu protrombin dapat menunjukkan jumlah protrombin dalam darah seperti tampak pada gambar 2.11. Dalam keadaan normal waktu protrombin adalah sekitar 12 detik. Fibrinogen merupakan salah satu protein plasma yang berperan dalam hemostasis yang juga disintesis oleh hepatosit. Peningkatan sintesis fibrinogen dalam hepar menyebabkan peningkatan jumlah fibrinogen dalam plasma (Guyton, 2000; Murray, 2000).

Grafik 2.1 : Hubungan antara jumlah protrombin dan waktu protrombin
(Guyton, 2000).

Lee (1999) dan Katzung (2001) menyatakan bahwa ada beberapa tes yang bisa dilakukan untuk mengetahui fungsi normal platelet, antara lain secara langsung dengan mengukur agregasi platelet, atau secara tidak langsung yaitu mengukur faktor-faktor yang berpengaruh pada agregasi platelet. Faktor-faktor yang mempengaruhi agregasi platelet antara lain jumlah platelet, kadar Ca^{2+} ekstrasel (Soebrata, 1995; Lee, 1999).

Platelet lebih sulit diukur dibandingkan eritrosit dan leukosit, kesulitan ini diperkirakan karena ukuran platelet yang kecil dan kemampuannya untuk melekat satu sama lain atau dengan kolagen bila ada stimulus. Secara umum tehnik pengukuran jumlah platelet dapat dibagi menjadi tiga, yaitu : hemositometer atau metode langsung, sampel darah didilusi kemudian platelet dihitung dengan cara yang sama dengan eritrosit dan leukosit; metode semi otomatis, yaitu sejumlah platelet dalam plasma disiapkan dengan cara sedimentasi atau sentrifuge yang kemudian diukur dengan *electronic particle counter*; metode ketiga adalah

fully automated electronics methods, bila dipakai metode ini mungkin hasilnya tidak cocok (jumlah platelet lebih rendah) karena adanya *cold agglutinin*, *giant platelet* dan *platelet satellitism*. Teknik modifikasi dan metode penghitungan secara manual terkadang masih tetap dibutuhkan untuk mengeliminasi terjadinya artefak serta menghitung jumlah platelet secara akurat (Lee, 1999).

Produksi fibrin yang termasuk dalam jalur ekstrinsik hemostasis membutuhkan faktor jaringan (tissue tromboplastin) dan faktor VII, juga faktor V, X, fibrinogen dan protrombin. Jalur ini dapat diukur dengan *plasma protrombine time* (waktu protrombin). Terdapat lima faktor koagulasi yang dapat diukur dengan waktu protrombin, yaitu faktor V, VII, X, protrombin dan fibrinogen. Waktu protrombin akan memanjang bila kadar plasma 10 % di bawah normal dan lebih sensitif bila terdapat defisiensi faktor VII dan X bila dibandingkan dengan defisiensi fibrinogen dan protrombin (Lee, 1999).

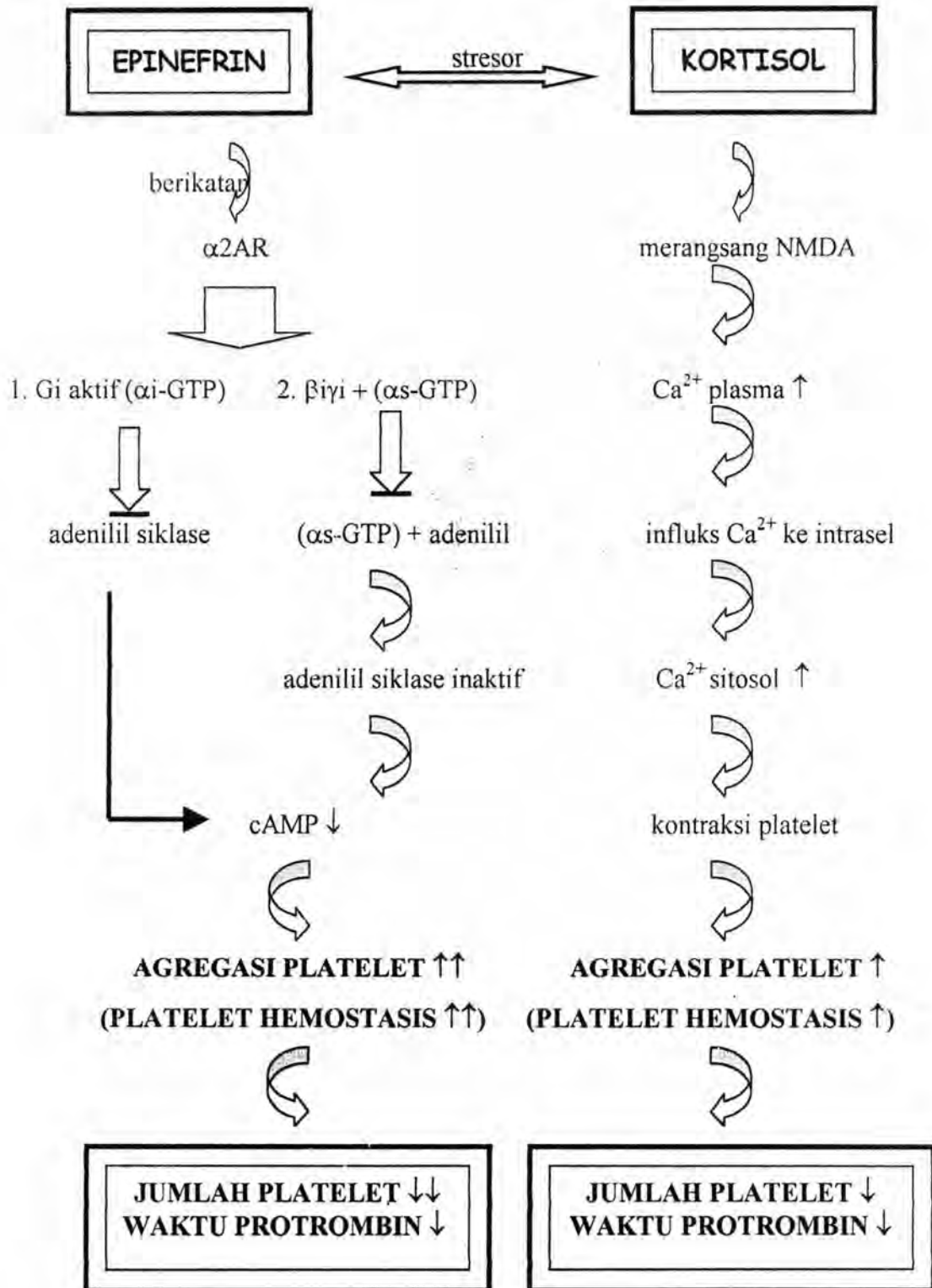
BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan :

Stres dapat merangsang sekresi epinefrin oleh medula adrenal. Epinefrin akan berikatan dengan α_2AR (hanya terdapat pada platelet) sehingga menyebabkan :

1. G protein tipe *inhibitory* (G_i) aktif (membentuk kompleks α_i -GTP), kompleks α_i -GTP secara langsung akan menghambat adenilil siklase sehingga menurunkan kadar cAMP, keadaan ini akan merangsang agregasi platelet (jumlah platelet yang terlibat agregasi meningkat) sehingga platelet sirkulasi menurun dan waktu protrombin meningkat.
2. $\beta_{1\gamma}$ yang terlepas dari α_i akan berikatan dengan kompleks α_s -GTP, sehingga menghambat ikatan α_s -GTP dengan adenilil siklase sehingga terjadi penurunan kadar cAMP yang akan merangsang agregasi platelet.
3. Pembentukan benang-benang fibrin (yang dapat diukur dengan waktu protrombin) tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah platelet namun juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti faktor V, VII, X, protrombin dan fibrinogen. Epinefrin dapat berikatan dengan reseptor yang terdapat pada hepar yang berperan mengatur sintesis protrombin oleh hepatosit. Peningkatan sintesis protrombin menyebabkan peningkatan jumlah protrombin dalam darah, sehingga jumlah protrombin yang terlibat dalam pembentukan benang-benang fibrin lebih banyak, akibatnya waktu protrombin menjadi lebih singkat (menurun).

Stres merangsang keluarnya kortisol dari korteks adrenal. Kortisol dapat bekerja melalui mekanisme :

kortisol dapat merangsang NMDA, rangsangan pada NMDA dapat mengaktivasi eNOS sehingga dapat mengkatalisir pembentukan NO dari L-arginin. NO yang terbentuk selanjutnya berikatan dengan guanilil siklase, ikatan ini menyebabkan aktifnya cGMP pada endotel pembuluh darah sehingga terjadi penurunan Ca^{2+} endotel dan peningkatan Ca^{2+} plasma.

Peningkatan kadar Ca^{2+} plasma menyebabkan gradien konsentrasi Ca^{2+} plasma dan platelet menjadi meningkat, akibatnya akan merangsang terbukanya Ca^{2+} leak channel pada membran platelet (Katzung, 2001). Terbukanya Ca^{2+} leak channel pada membran platelet menyebabkan influks Ca^{2+} ke dalam platelet, Ca^{2+} yang masuk akan berikatan dengan PLA2 untuk membentuk asam arachidonat, dengan bantuan enzim siklooksigenase asam arachidonat akan diubah menjadi endoperoxidase PGG2 dan PGH2 yang selanjutnya akan diubah menjadi TXA2 oleh tromboksan sintase, TXA2 mengalami eksositosis dan akan berperan sebagai signal parakrin untuk mengaktifkan platelet sekitarnya dengan jalan berikatan dengan reseptor TXA2 yang terdapat pada permukaan membran platelet sehingga akan mengaktifkan G protein. G protein yang aktif akan berikatan dengan PLC β sehingga PLC β menjadi aktif, aktifnya PLC β akan merangsang pembentukan IP3 dan DAG. IP3 merangsang kontraksi aktin-miosin sehingga platelet akan mengeluarkan pseudopodi sekaligus merangsang reaksi pelepasan. Bahan-bahan yang dikeluarkan pada saat reaksi pelepasan seperti ADP, Ca^{2+} dapat mengaktifkan platelet yang ada di sekitarnya sehingga akan merangsang agregasi platelet.

Kortisol dapat menyebabkan katabolisme protein pada seluruh sel tubuh sehingga kadar asam amino darah meningkat. Peningkatan kadar asam amino

darah akan menyebabkan mobilisasi asam amino menuju hepar meningkat, sehingga sintesis protein pun meningkat. Salah satu faktor koagulasi yang disintesis oleh hepar dan termasuk dalam protein plasma adalah fibrinogen. Kortisol dapat meningkatkan sintesis fibrinogen oleh hepatosit, hal ini dapat menyebabkan peningkatan fibrinogen plasma sehingga waktu protrombin menjadi lebih singkat (menurun).

3.2 Hipotesis

Berdasar tinjauan pustaka dan kerangka konsep yang telah diuraikan sebelumnya, maka diajukan perumusan hipotesis sebagai berikut :

1. Pemberian epinefrin dapat menurunkan jumlah platelet dan memperpendek waktu protrombin
2. Pemberian kortisol dapat menurunkan jumlah platelet dan memperpendek waktu protrombin
3. Epinefrin dapat menurunkan jumlah platelet dan waktu protrombin lebih cepat dibanding kortisol.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

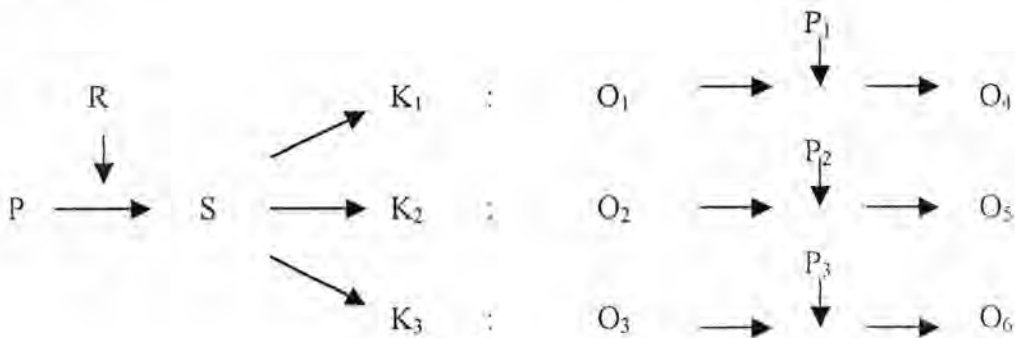
BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *The Pretest-Posttest Control Group Design* (Zainuddin, 2002).

Secara skematis rancangan penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

R = randomisasi seluruh sampel

K₁ = kelompok perlakuan epinefrin dosis 0,01 mg/ml/kg BB

K₂ = kelompok perlakuan kortisol dosis 4 mg/ml/kg BB

K₃ = kelompok plasebo, *normal saline* 1 ml/kg BB

O₁, O₂, O₃ = observasi *pretest* tiap kelompok

P₁, P₂, P₃ = perlakuan pada tiap kelompok

O₄, O₅, O₆ = observasi *posttest* tiap kelompok.

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Tehnik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah kelinci jantan, *Oryctolagus cuniculus*, berumur sekitar 1 tahun dengan berat badan sekitar 1 kg.

4.2.2 Sampel

Penelitian ini membagi sampel dalam tiga kelompok, yaitu :

1. Kelompok epinefrin

Dilakukan pemberian epinefrin dosis 0,01 mg/ml/kg BB kelinci

2. Kelompok kortisol

Dilakukan pemberian kortisol dosis 4 mg/ml/kg BB kelinci

3. Kelompok plasebo

Hanya dilakukan pemberian *normal saline* 1 ml/kg BB kelinci.

4.2.3 Besar Sampel

Adapun besar sampel minimal ditentukan dengan menggunakan rumus Higgins & Kleinbaum (1985) sebagai berikut :

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

Oleh karena rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Pretest-Posttest Control Group Design*, maka $\frac{Sc^2}{(Xc - Xt)^2} = 1$ (Widodo, 1998).

Kemungkinan hewan coba mati kecil, sehingga digunakan $f = 10\%$.

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{1}{1-f} \times \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot Sc^2}{(Xc - Xt)^2} \\
 &= \frac{1}{1-10\%} \times (1,65 + 0,824)^2 \\
 &= 1 \times (2,47)^2 \\
 &= 6,10 \\
 &= 7.
 \end{aligned}$$

Keterangan :

- n = besar sampel
- Z α = harga standar α 0,05 adalah 1,65
- Z β = harga β 0,20 adalah 0,824
- Sc = simpang baku kelompok kontrol
- Xc = rerata kelompok kontrol
- Xt = rerata kelompok perlakuan
- f = proporsi kegagalan.

Jumlah sampel 7 untuk tiap kelompok perlakuan, sehingga besar sampel secara keseluruhan adalah 21.

4.2.4 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel secara *simple random sampling* (Zainuddin, 2002).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

4.3.1.1 Variabel Bebas (*independent*)

Variabel bebas pada penelitian ini meliputi :

1. Epinefrin
2. Kortisol .

4.3.1.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung meliputi :

1. Jumlah platelet
2. Waktu protrombin.

4.3.1.3 Variabel Kendali

Variabel kendali meliputi :

jenis hewan coba, jenis kelamin hewan coba, umur hewan coba, waktu perlakuan, cara pengambilan data, cara preparasi dan cara pemeriksaan unit analisis (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

4.3.1.4 Variabel Moderator

Variabel moderator dalam penelitian ini adalah berat badan hewan coba (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

4.3.2.1 Epinefrin

Epinefrin yang digunakan adalah epinefrin bitatrat, diberikan kepada hewan coba kelompok I, dengan dosis 0,01mg/ml/kg BB kelinci, sekali secara intravena.

Perhitungan dosis berdasar pada hasil Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia dari Laurence dan Bacharah (1964) cit Kusumawati (2003), tabel seperti lampiran 5. Hasil perhitungan seperti lampiran 3, yaitu dosis obat untuk hewan coba adalah 0,01 mg/ml/kg BB kelinci.

4.3.2.b Kortisol

Kortisol yang dipakai adalah hidrokortison sodium suksinat, diberikan kepada hewan coba kelompok II, dengan dosis 4 mg/ml/kg BB kelinci, sekali secara intravena.

Perhitungan dosis berdasar pada hasil Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia dari Laurence dan Bacharah (1964) cit Kusumawati (2003), tabel seperti lampiran 5. Hasil perhitungan seperti lampiran 4, yaitu dosis obat untuk hewan coba adalah 4 mg/ml/kg BB kelinci.

4.3.2.c Normal saline

Normal saline diberikan kepada hewan coba kelompok III, sebanyak 1 ml/kg BB kelinci, sekali secara intravena.

Volume larutan obat yang diberikan untuk setiap hewan coba pada tiap kelompok perlakuan adalah 1 ml, sesuai dengan aturan pemberian volume larutan obat menurut Ritchel (1974) cit Kusumawati (2003), seperti pada lampiran 6.

4.3.2.d Jumlah Platelet

Jumlah platelet adalah jumlah seluruh platelet yang telah ditempatkan pada kamar hitung Improve Neubauer dalam seluruh bidang kasar di tengah-tengah (1

Perhitungan dosis berdasar pada hasil Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia dari Laurence dan Bacharah (1964) cit Kusumawati (2003), tabel seperti lampiran 5. Hasil perhitungan seperti lampiran 3, yaitu dosis obat untuk hewan coba adalah 0,01 mg/ml/kg BB kelinci.

4.3.2.2 Kortisol

Kortisol yang dipakai adalah hidrokortison sodium suksinat, diberikan kepada hewan coba kelompok II, dengan dosis 4 mg/ml/kg BB kelinci, sekali secara intravena.

Perhitungan dosis berdasar pada hasil Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia dari Laurence dan Bacharah (1964) cit Kusumawati (2003), tabel seperti lampiran 5. Hasil perhitungan seperti lampiran 4, yaitu dosis obat untuk hewan coba adalah 4 mg/ml/kg BB kelinci.

4.3.2.3 Normal saline

Normal saline diberikan kepada hewan coba kelompok III, sebanyak 1 ml/kg BB kelinci, sekali secara intravena.

Volume larutan obat yang diberikan untuk setiap hewan coba pada tiap kelompok perlakuan adalah 1 ml, sesuai dengan aturan pemberian volume larutan obat menurut Ritchel (1974) cit Kusumawati (2003), seperti pada lampiran 6.

4.3.2.4 Jumlah Platelet

Jumlah platelet adalah jumlah seluruh platelet yang telah ditempatkan pada kamar hitung Improve Neubauer dalam seluruh bidang kasar di tengah-tengah (1

mm²) menggunakan lensa dengan obyektif besar, jumlah ini kemudian dikalikan 1000 yang akan menghasilkan jumlah platelet per μ l darah.

4.3.2.5 Waktu Protrombin

Waktu protrombin adalah waktu yang dibutuhkan untuk membentuk benang-benang fibrin sejak ditamhkannya larutan CaCl₂.

4.3.2.6 Jenis Hewan Coba

Jenis hewan coba adalah kelinci, *Oryctolagus cuniculus*, dari peternakan di kota Batu Malang.

4.3.2.7 Jenis Kelamin Hewan Coba

Jenis kelamin hewan coba adalah jantan.

4.3.2.8 Umur Hewan Coba

Hewan coba yang dipakai pada penelitian ini adalah berumur sekitar 1 tahun.

4.3.2.9 Pemeliharaan dan Perawatan Hewan Coba

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biokimia FK Unair, dalam kandang ukuran 13 cm x 10 cm x 10 cm (1300 cm³), masing-masing berisi satu ekor hewan coba. Kandang terbuat dari anyaman kawat dan beralaskan sekam. Makanan yang diberikan adalah sayur kangkung dengan minum aqua.

4.4 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Kelinci, *Oryctolagus cuniculus*, jenis kelamin jantan, umur sekitar 1 tahun, berat sekitar 1 kg, dalam kondisi sehat fisik, yang diambil dari peternakan kelinci di kota Batu Malang
2. Epinefrin bitatrat, kemasan ampul, 1 mg/ml, buatan PT. Ethica
3. Solu cortef, kemasan vial, 100 mg/2 ml, buatan PT. UpJohn Indonesia
4. Normal saline
5. Larutan Rees Ecker
6. Larutan natrium sitrat 3,8%
7. Larutan CaCl_2 0,22%
8. Tromboplastin.

4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Kandang ukuran 1300 cm^3
2. Kertas label
3. Kapas/tissue
4. Tabung reaksi untuk sampel darah
5. Tabung sentrifuge untuk membuat plasma
6. Cawan petri
7. S spuit untuk injeksi obat dan mengambil sampel darah
8. Gelas ukur untuk pengenceran obat
9. Pipet eritrosit

9. Pipet eritrosit
10. Kamar hitung Improve Neubauer
11. Mikroskop cahaya.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.6.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair. Pemeliharaan, perlakuan dan pengambilan unit analisis pada sampel dilakukan di Laboratorium Biokimia FK Unair, sedangkan pemeriksaan jumlah platelet dan waktu protrombin dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

4.6.2 Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian ini berlangsung selama satu minggu pada akhir bulan Mei 2004.

4.7 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data

4.7.1 Pengambilan Data *Pretest*

Pengambilan data *pretest* pada ketiga kelompok dilakukan sebelum diberikan perlakuan, yaitu diambil darah dari vena telinga sebanyak 4 ml. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan waktu perdarahan.

4.7.2 Pelaksanaan Perlakuan

Pelaksanaan perlakuan dilakukan 3 jam setelah pengambilan data *pretest*, yaitu :

1. Pemberian epinefrin dosis 0,01 mg/ml/kg BB kelinci, sekali, secara intravena pada hewan coba kelompok I
2. Pemberian kortisol dosis 4 mg/ml/kg BB kelinci, sekali, secara intravena pada hewan coba kelompok II
3. Pemberian normal saline 1 ml/kg BB kelinci, sekali, secara intravena pada hewan coba kelompok III.

4.7.2 Pengambilan Data *Posttest*

Pengambilan data *posttest* dilakukan 15 dan 30 menit setelah perlakuan berdasar *peak level* obat epinefrin dan kortisol (Joyce, 1984), yaitu diambil dari dari vena telinga sebanyak 4 ml (Kusumawati, D., 2003) pada semua kelompok perlakuan. Kemudian setelah penelitian ini berakhir semua hewan coba dieliminasi.

4.8 Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan :

1. Uji statistik deskriptif
2. Uji normalitas distribusi :

uji normalitas distribusi dilakukan pada seluruh kelompok perlakuan untuk data *pretest* dan *posttest*.

3. Uji anova same subyek yang dilanjutkan dengan LSD pada tiap kelompok perlakuan.
4. Uji anova faktorial same subyek yang dilanjutkan dengan LSD antar kelompok perlakuan.

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

Data yang diperoleh dari hasil penelitian berupa jumlah platelet (μl) dan waktu protrombin (detik) yang dideskriptifkan dan diuji dengan taraf signifikansi 5 % dan diolah dengan program SPSS X dan Systat for Window untuk analisis grafik. Data penelitian yang diperoleh meliputi jumlah platelet sebelum perlakuan (**Pre**), 15 menit setelah perlakuan (**15'**) dan 30 menit setelah perlakuan (**30'**); waktu protrombin sebelum perlakuan (**Pre**), 15 menit setelah perlakuan (**15'**) dan 30 menit setelah perlakuan (**30'**). Kelompok yang diteliti adalah : kelompok dengan pemberian obat epinefrin dosis 0,01 mg/ml/kg BB (Epinefrin); kelompok dengan pemberian obat kortisol dosis 4 mg/ml/kg BB (Kortisol) dan kelompok kontrol (Plasebo).

Dari hasil uji statistik deskriptif (lampiran 8) diketahui bahwa dari kelompok epinefrin : variabel jumlah platelet **Pre** mempunyai rerata 265,71/ μl dan simpang baku 139,83/ μl ; jumlah platelet **15'** rerata 160,00/ μl dan simpang baku 64,23/ μl ; jumlah platelet **30'** rerata 237,14/ μl dan simpang baku 126,78/ μl . Kelompok kortisol : variabel jumlah platelet **Pre** memiliki rerata 212,00/ μl dan simpang baku 34,02/ μl ; jumlah platelet **15'** rerata 220,40/ μl dan simpang baku 60,69/ μl ; jumlah platelet **30'** rerata 184,00/ μl dan simpang baku 84,22/ μl . Kelompok plasebo variabel jumlah platelet **Pre** rerata 195,83/ μl dan simpang baku 51,35/ μl ; jumlah platelet **15'** rerata 274,17/ μl dan simpang baku 77,03;

jumlah platelet **30'** rerata 269,17/ μ l dan simpang baku 93,83/ μ l; seperti tampak pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 : Rerata dan simpang baku jumlah platelet (μ l) **Pre, 15'** dan **30'** menurut kelompok perlakuan.

Kelompok	Variabel	Rerata	Simpang Baku
Epinefrin	Platelet Pre	265,71	139,83
	15'	160,00	64,23
	30'	237,14	126,78
Kortisol	Platelet Pre	212,00	34,02
	15'	220,40	60,69
	30'	184,00	84,22
Plasebo	Platelet Pre	195,83	51,35
	15'	274,17	77,03
	30'	269,17	93,83

Hasil uji statistik deskriptif (lampiran 8) untuk variabel waktu protrombin adalah : kelompok epinefrin : waktu protrombin **Pre** rerata 9,867 detik dan simpang baku 2,166 detik; waktu protrombin **15'** rerata 7,000 detik dan simpang baku 1,000 detik; waktu protrombin **30'** rerata 7,817 detik dan simpang baku 1,102 detik. Kelompok kortisol : waktu protrombin **Pre** rerata 10,117 detik dan simpang baku 2,782 detik; waktu protrombin **15'** rerata 7,550 detik dan simpang baku 2,046 detik; waktu protrombin **30'** rerata 6,283 detik dan simpang baku 1,272 detik. Kelompok plasebo : waktu protrombin **Pre** rerata 8,129 detik dan simpang baku 1,423 detik; waktu protrombin **15'** rerata 8,800 detik dan simpang baku 1,229 detik; waktu protrombin **30'** rerata 7,929 detik dan simpang baku 1,029 detik; seperti tampak pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 : Rerata dan simpang baku waktu protrombin (detik) Pre, 15' dan 30' menurut kelompok perlakuan.

Kelompok	Variabel	Rerata	Simpang Baku
Epinefrin	W. Protro. Pre	9,867	2,166
	15'	7,000	1,000
	30'	7,817	1,102
Kortisol	W. Protro. Pre	10,117	2,782
	15'	7,550	2,046
	30'	6,283	1,272
Plasebo	W. Protro. Pre	8,129	1,423
	15'	8,800	1,229
	30'	7,929	1,029

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

Untuk melakukan analisis hasil penelitian dengan menggunakan statistik parametrik, peneliti harus membuktikan dulu apakah data yang dianalisis itu berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* (lampiran 9). Hasil uji normalitas variabel tergantung jumlah platelet kelompok epinefrin, kortisol dan plasebo dapat dilihat pada tabel 5.3. Hasil uji normalitas variabel tergantung waktu protrombin kelompok epinefrin, kortisol dan plasebo dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.3 : Hasil uji normalitas data kelompok terhadap jumlah platelet (K/ μ l) Pre, 15' dan 30'.

Kelompok	waktu Pre	waktu 15'	waktu 30'
Epinefrin	0,606	0,575	0,992
Kortisol	0,733	0,507	0,590
Plasebo	0,910	0,917	0,986

Keterangan : isi tabel adalah probabilitas (kemaknaan).

Berdasar tabel 5.3 menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena $p > 0,05$.

Tabel 5.4 : Hasil uji normalitas data kelompok terhadap waktu protrombin (detik) Pre, 15' dan 30'.

Kelompok	waktu Pre	waktu 15'	waktu 30'
Epinefrin	0,966	0,523	0,989
Kortisol	0,624	0,945	0,695
Plasebo	0,549	0,788	0,807

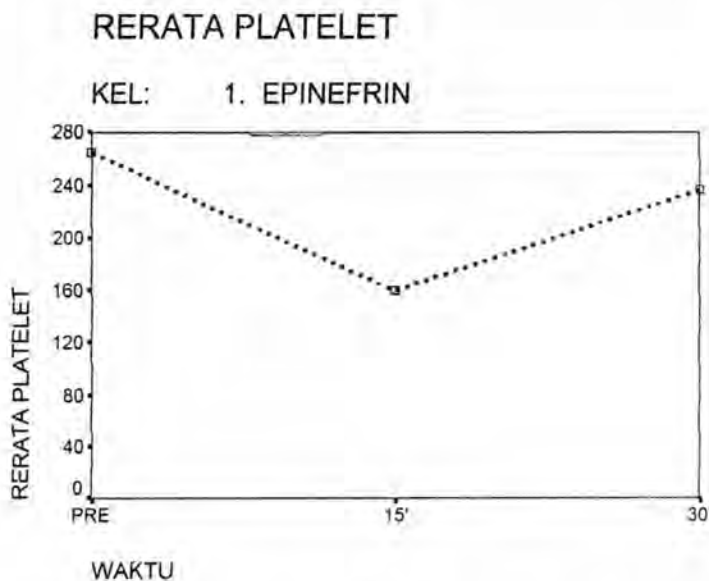
Keterangan : isi tabel adalah probabilitas (kemaknaan).

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan di dalam tiap kelompok dilakukan uji *Multivariate Test* (lampiran 10), yaitu variabel jumlah platelet kelompok epinefrin $p = 0,052$; kelompok kortisol $p = 0,079$; kelompok plasebo $p = 0,283$; variabel waktu protrombin kelompok epinefrin $p = 0,106$; kelompok kortisol $p = 0,066$; kelompok plasebo $p = 0,106$. Hasil seperti tampak pada tabel 5.5.

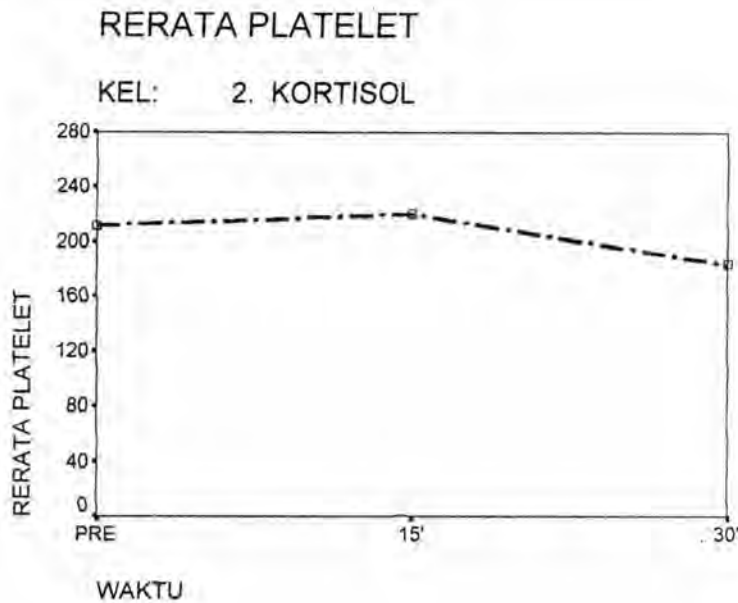
Untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara sebelum perlakuan (Pre) dan sesudah perlakuan (15' dan 30') pada tiap kelompok, dilakukan uji dengan Anava same subyek dilanjutkan dengan uji LSD (lampiran 10) seperti tampak pada tabel 5.5 dan 5.6 juga grafik 5.1 dan 5.2.

Tabel 5.5 : Hasil uji beda variabel jumlah platelet sebelum dan sesudah perlakuan pada tiap kelompok.

Kelompok	Waktu	Waktu	p
Epinefrin	Pre	15'	0,017
		30'	0,482
	15'	30'	0,047
Kortisol	Pre	15'	0,701
		30'	0,415
	15'	30'	0,050
Plasebo	Pre	15'	0,116
		30'	0,194
	15'	30'	0,780



Grafik 5.1 : Rerata jumlah platelet Pre, 15' dan 30' pada kelompok Epinefrin.



Grafik 5.2 : Rerata jumlah platelet Pre, 15' dan 30' pada kelompok Kortisol.

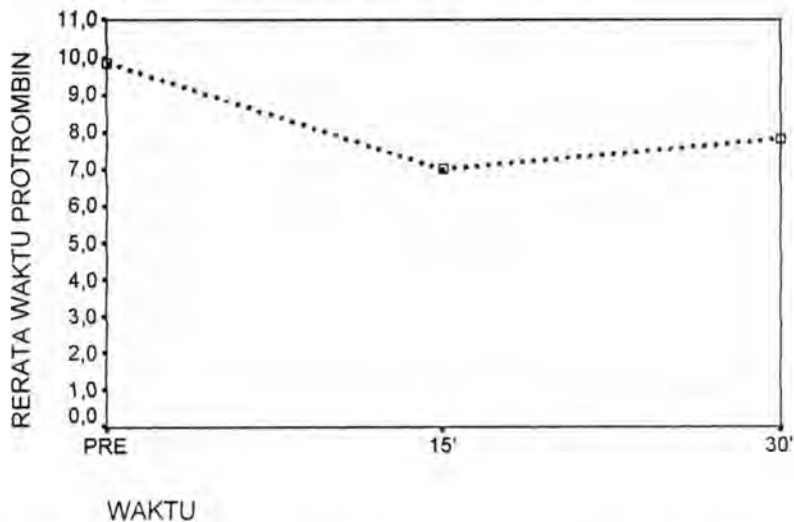
Dari tabel 5.5 : Kelompok epinefrin : antara Pre dan 15' $p = 0,017$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan adanya perbedaan, demikian halnya dengan antara 15' dan 30' terdapat perbedaan karena $p = 0,047$, sedang antara Pre dan 30' tidak terdapat perbedaan karena $p = 0,482$. Kelompok kortisol : antara Pre dan 15' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,701$), antara Pre dan 30' juga tidak terdapat perbedaan ($p = 0,415$), namun antara 15' dan 30' terdapat perbedaan ($p = 0,050$). Kelompok plasebo : antara Pre dan 15' $p = 0,116$, berarti tidak terdapat perbedaan, antara Pre dan 30' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,194$), antara 15' dan 30' juga tidak terdapat perbedaan ($p = 0,780$).

Tabel 5.6 : Hasil uji beda variabel waktu protrombin sebelum dan sesudah perlakuan pada tiap kelompok.

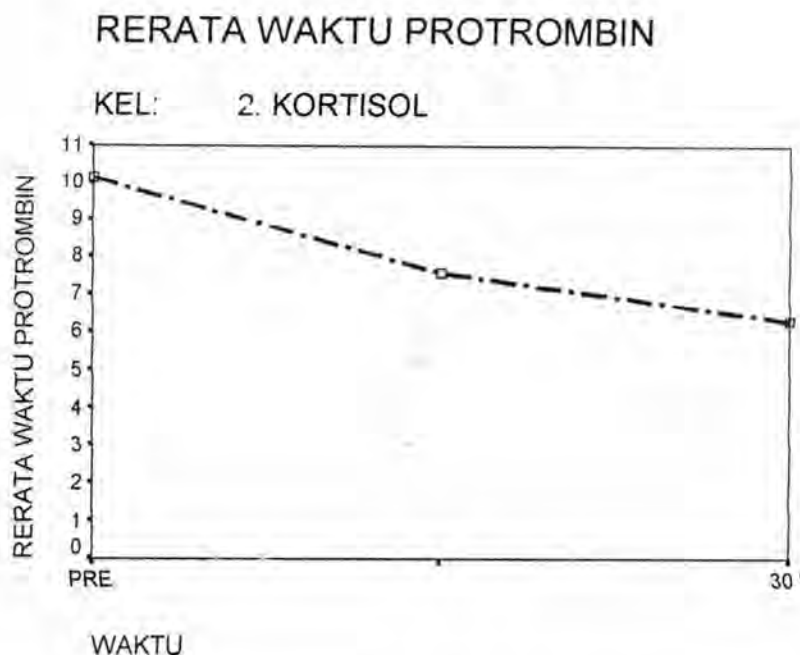
Kelompok	Waktu	Waktu	p
Epinefrin	Pre	15'	0,050
		30'	0,148
	15'	30'	0,076
Kortisol	Pre	15'	0,062
		30'	0,017
	15'	30'	0,061
Plasebo	Pre	15'	0,052
		30'	0,550
	15'	30'	0,556

RERATA WAKTU PROTROMBIN

KEL: 1. EPINEFRIN



Grafik 5.3 : Rerata waktu protrombin Pre, 15' dan 30' pada kelompok Epinefrin



Grafik 5.4 : Rerata waktu protrombin Pre, 15' dan 30' pada kelompok Kortisol.

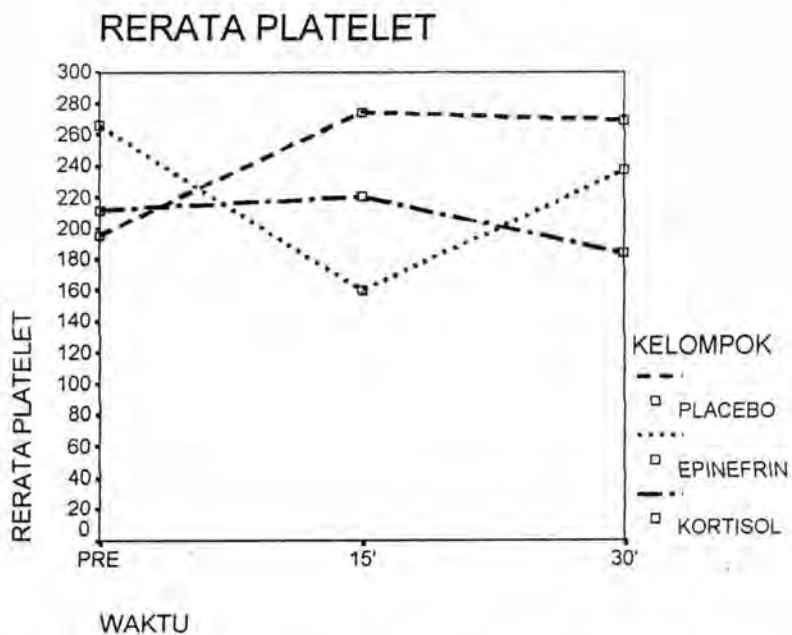
Dari tabel 5.6 : Kelompok epinefrin : antara Pre dan 15' terdapat perbedaan ($p = 0,050$), antara Pre dan 30' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,148$), antara 15' dan 30' juga tidak terdapat perbedaan ($p = 0,076$). Kelompok kortisol : antara Pre dan 15' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,062$), antara Pre dan 30' terdapat perbedaan ($p = 0,017$), antara 15' dan 30' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,061$). Kelompok Plasebo : antara Pre dan 15' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,052$), antara Pre dan 30' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,550$), antara 15' dan 30' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,556$).

Dari hasil uji normalitas pada variabel jumlah platelet dan waktu protrombin tampak data berdistribusi normal. Oleh karena itu untuk membandingkan apakah terdapat perbedaan diantara ketiga kelompok dilakukan

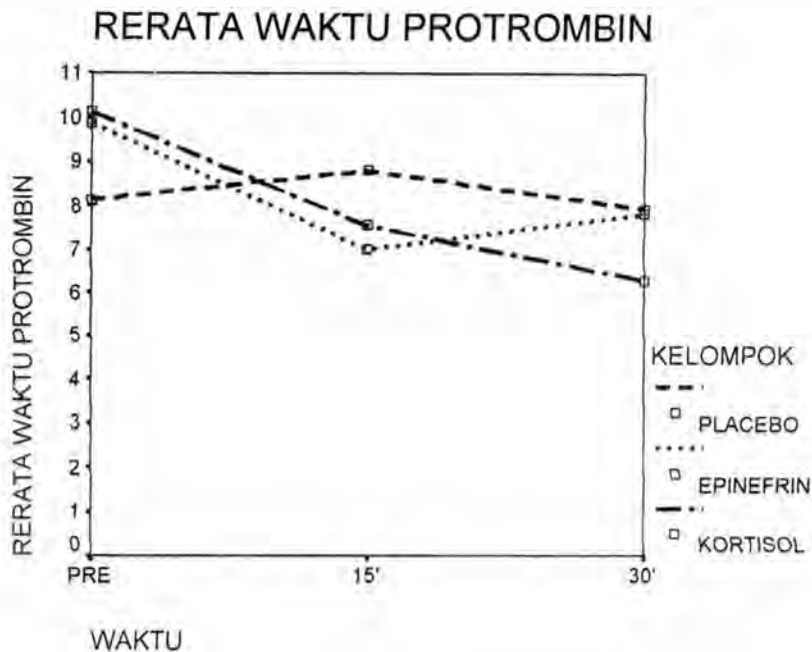
uji *Oneway Anova* (lampiran 11) seperti tampak pada tabel 5.8 dan grafik 5.3 dan 5.4.

Tabel 5.7 : Hasil uji beda variabel jumlah platelet dan waktu protrombin diantara ketiga kelompok.

Variabel	Waktu	p
Jumlah platelet	Pre	0,237
	15'	0,028 (Epi dan Plasebo)
	30'	0,844
Waktu protrombin	Pre	0,219
	15'	0,067
	30'	0,023 (Epinef dan Korti)



Grafik 5.5 : Rerata jumlah platelet Pre, 15' dan 30' pada semua kelompok perlakuan.



Grafik 5.6 : Rerata waktu protrombin Pre, 15' dan 30' pada semua kelompok perlakuan.

Dari hasil uji beda diantara ketiga kelompok seperti tampak pada tabel 5.7, untuk variabel jumlah platelet : untuk Pre tidak terdapat perbedaan diantara ketiga kelompok ($p = 0,237$), untuk 15' terdapat perbedaan ($p = 0,028$) antara dua kelompok : epinefrin dan plasebo, untuk 30' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,844$). Variabel waktu protrombin : untuk Pre tidak terdapat perbedaan diantara ketiga kelompok ($p = 0,219$), untuk 15' tidak terdapat perbedaan ($p = 0,067$), untuk 30' terdapat perbedaan ($p = 0,023$) antara dua kelompok : epinefrin dan kortisol.

BAB 6

PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian epinefrin dan kortisol terhadap penurunan jumlah platelet dan waktu protrombin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimental murni (*true experimental*) karena adanya perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok kontrol dan randomisasi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Pretest-Posttest Control Group Design*, karena pengukuran variabel tergantung jumlah platelet dan waktu protrombin dilakukan sebelum perlakuan (**Pre**) dan 15 menit & 30 menit sesudah perlakuan (**15'** dan **30'**) pada seluruh kelompok perlakuan, yaitu kelompok epinefrin, kortisol dan plasebo. (Zainuddin, 2002).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan *Oryctolagus cuniculus* yang berumur sekitar 1 tahun dengan berat badan sekitar 1 kg, oleh karena volume darah hewan coba (kelinci) cukup untuk dilakukan tiga kali pengambilan (sekali untuk *pretest* dan dua kali untuk *posttest*) masing-masing 4 ml dalam waktu yang singkat. Pengambilan sampel darah dilakukan pada vena telinga disebabkan vena telinga memiliki volume darah yang cukup banyak sehingga kelinci tidak perlu dikorbankan (Kusumawati, 2003).

Pengukuran variabel tergantung dilakukan untuk melihat pengaruh stres epinefrin dan kortisol. Pengambilan data *posttest* dilakukan 15 dan 30 menit setelah perlakuan adalah berdasar *peak level* obat epinefrin (Joyce, 1984).

Analisis data untuk menjawab hasil penelitian dapat dirinci seperti berikut ini. Untuk mendapatkan gambaran perubahan masing-masing variabel tergantung dilakukan analisis deskriptif pada data *pretest* dan *posttest* pada seluruh kelompok perlakuan. Uji normalitas data dilakukan untuk melihat gambaran normalitas distribusi data variabel tergantung pada seluruh kelompok perlakuan karena uji normalitas dilakukan sebagai syarat untuk analisis selanjutnya. Hasil uji normalitas variabel tergantung untuk seluruh kelompok perlakuan baik data *pretest* maupun *posttest* menunjukkan gambaran berdistribusi normal ($p > 0,05$; lihat tabel 5.3 dan 5.4).

Untuk melihat adanya respon perubahan variabel tergantung akibat perlakuan pada tiap kelompok perlakuan dilakukan uji *Pairwise comparisons*. Hasil uji beda variabel tergantung jumlah platelet kelompok epinefrin menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara Pre dan 15' ($p = 0,017$) juga antara 15' dan 30' ($p = 0,047$) (lihat tabel 5.5 dan grafik 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa epinefrin mempengaruhi agregasi platelet dengan cara berikatan dengan adrenoseptor α_2 (α_2AR) yang terdapat pada membran platelet. Ikatan antara epinefrin dan α_2AR dapat mengaktifkan G protein tipe G_i sehingga α_i terlepas dari $\beta_i\gamma_i$. Selanjutnya α_i berikatan dengan GTP membentuk kompleks α_i -GTP, kompleks ini menghambat adenilil siklase secara langsung sehingga terjadi penurunan kadar cAMP yang akan merangsang agregasi platelet. Atau $\beta_i\gamma_i$ yang terlepas dari α_i berikatan dengan subunit α dari G_s (α_s) yang terikat dengan GTP sehingga terbentuk kompleks ($\beta_i\gamma_i$)-(α_s -GTP), kompleks ini menghambat ikatan antara α_s -GTP dengan adenilil siklase sehingga adenilil siklase tetap dalam

keadaan inaktif, akibatnya terjadi penurunan kadar cAMP yang merangsang terjadinya agregasi platelet (Katzung, 2001).

Epinefrin tergolong aktivator lemah (Nillson, 2002), namun dari hasil statistik menunjukkan bahwa epinefrin dapat meningkatkan agregasi platelet. Bilamana epinefrin dapat meningkatkan agregasi platelet, hal ini berarti platelet yang terlibat dalam agregasi juga meningkat, sebaliknya akan terjadi penurunan platelet sirkulasi. Penurunan terjadi pada menit ke 15 setelah perlakuan (lihat grafik 12.1), hal ini sesuai dengan *peak level* epinefrin dalam plasma (Joyce, 1984).

Hasil uji beda variabel tergantung jumlah platelet pada kelompok kortisol menunjukkan adanya perbedaan yang cenderung bermakna antara 15' dan 30' ($p = 0,050$; lihat tabel 5.5). Hal ini berarti kortisol mempengaruhi (meningkatkan agregasi) platelet. Stres fisik dan mental dapat merangsang pengeluaran hormon stres, yaitu katekolamin dan kortisol. Menurut (Johnston, 2000; Esplugues, 2002; Anonim, 2003), pengaruh kortisol terhadap agregasi platelet adalah melalui NMDA. Kortisol dapat merangsang NMDA, rangsangan pada NMDA dapat mengaktivasi eNOS sehingga dapat mengkatalisir pembentukan NO dari L-arginin. NO yang terbentuk selanjutnya berikatan dengan guanilil siklase, ikatan ini menyebabkan aktifnya cGMP pada endotel pembuluh darah sehingga terjadi penurunan Ca^{2+} endotel dan peningkatan Ca^{2+} plasma.

Peningkatan kadar Ca^{2+} plasma menyebabkan gradien konsentrasi Ca^{2+} plasma dan platelet menjadi meningkat, akibatnya merangsang terbukanya Ca^{2+} *leak channel* pada membran platelet (Katzung, 2001). Terbukanya Ca^{2+} *leak channel* pada membran platelet menyebabkan influks Ca^{2+} ke dalam platelet, Ca^{2+}

yang masuk berikatan dengan PLA2 untuk membentuk asam arachidonat, dengan bantuan enzim siklooksigenase asam arachidonat diubah menjadi endoperoksidase PGG2 dan PGH2 yang selanjutnya diubah menjadi TXA2 oleh tromboksan sintase, TXA2 mengalami eksositosis dan berperan sebagai signal parakrin untuk mengaktifkan platelet sekitarnya dengan jalan berikatan dengan reseptor TXA2 yang terdapat pada permukaan membran platelet sehingga dapat mengaktifkan G protein. G protein yang aktif selanjutnya berikatan dengan PLC β sehingga PLC β menjadi aktif, aktifnya PLC β merangsang pembentukan IP3 dan DAG. IP3 merangsang kontraksi aktin-miosin sehingga platelet mengeluarkan pseudopodi sekaligus merangsang reaksi pelepasan. Bahan-bahan yang dikeluarkan pada saat reaksi pelepasan seperti ADP, Ca^{2+} dapat mengaktifkan platelet yang ada di sekitarnya sehingga dapat merangsang agregasi platelet (Becker, 1999; Shapiro, 1999; Nillson, 2002).

Hasil uji beda variabel tergantung waktu protrombin kelompok epinefrin menunjukkan adanya perbedaan yang cenderung bermakna antara Pre dan 15' ($p = 0,050$; lihat tabel 5.6). Hal ini berarti terjadi penurunan waktu protrombin akibat pemberian epinefrin setelah menit ke-15 (lihat grafik 5.3). Bilamana platelet sirkulasi menurun mestinya waktu protrombin akan memanjang. Namun pembentukan benang-benang fibrin (yang dapat diukur dengan waktu protrombin) tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah platelet namun juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti faktor V, VII, X, protrombin dan fibrinogen. Epinefrin dapat berikatan dengan reseptor yang terdapat pada hepar yang berperan mengatur sintesis protrombin oleh hepatosit. Peningkatan sintesis protrombin menyebabkan peningkatan jumlah protrombin dalam darah, sehingga jumlah protrombin yang

terlibat dalam pembentukan benang-benang fibrin lebih banyak, akibatnya waktu protrombin menjadi lebih singkat (Guyton, 2000).

Hasil uji beda variabel tergantung waktu protrombin pada kelompok kortisol menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara Pre dan 30' ($p = 0,017$; lihat tabel 5.7) dengan kata lain terjadi penurunan waktu protrombin pada menit ke-30 (lihat grafik 5.4). Bilamana platelet sirkulasi jumlahnya menurun maka waktu protrombin akan lebih panjang. Kortisol dapat menyebabkan katabolisme protein pada seluruh sel tubuh sehingga kadar asam amino darah meningkat. Peningkatan kadar asam amino darah akan menyebabkan mobilisasi asam amino menuju hepar meningkat, sehingga sintesis protein pun meningkat. Salah satu faktor koagulasi yang disintesis oleh hepar dan termasuk dalam protein plasma adalah fibrinogen. Kortisol dapat meningkatkan sintesis fibrinogen oleh hepatosit, hal ini dapat menyebabkan peningkatan fibrinogen plasma sehingga waktu protrombin menjadi lebih singkat (Guyton, 2000).

Hasil analisis variabel tergantung jumlah platelet antar kelompok (epinefrin, kortisol dan plasebo) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada 15' antara dua kelompok ($p = 0,028$; lihat tabel 5.8), yaitu kelompok epinefrin dan kelompok plasebo (lihat grafik 5.5). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pengaruh epinefrin dan kortisol terhadap jumlah platelet.

Hasil analisis variabel tergantung waktu protrombin antar kelompok (Epinefrin, Kortisol dan Plasebo) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada 30' antara dua kelompok ($p = 0,023$; lihat tabel 5.7), yaitu kelompok Epinefrin dan kelompok Kortisol (lihat grafik 5.6). Waktu protrombin akibat pemberian kortisol lebih turun dibanding epinefrin, hal ini mungkin disebabkan

karena waktu yang dibutuhkan untuk membentuk fibrinogen akibat pemberian kortisol lebih singkat dibanding waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan protrombin akibat pemberian epinefrin, sehingga dalam waktu yang sama jumlah fibrinogen yang terbentuk lebih besar dibanding jumlah protrombin yang terbentuk, selain itu mungkin dipengaruhi oleh faktor lainnya.

BAB 7
PENUTUP

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian epinefrin dapat menurunkan jumlah platelet dan memperpendek waktu protrombin pada menit ke-15.
2. Pemberian kortisol dapat menurunkan jumlah platelet dan memperpendek waktu protrombin pada menit ke-30.
3. Pengaruh epinefrin dan kortisol terhadap jumlah platelet tidak berbeda, sedang waktu protrombin akibat pemberian kortisol lebih turun dibanding epinefrin.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan alat atau sarana pengukuran lain sebagai pembanding.
2. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan metode yang berbeda (jenis stres lainnya).
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan jam perlakuan sama.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2003. *Questions/Issues*, Biophys Thought Papers, p. I.
- Arnolda LF, McKittrick DJ, Smith IDL, Minson JB, 2000. *Nitric Oxide Limits Pressor Response To Sympathetic Activation In Rat Spinal Cord*, Hypertension, 36, Am Heart Associate Inc, pp. 1-9.
- Banga HS, Simons ER, Brass LF, Rittenhouse SE, 1986. *Activation of phospholipase A and C in human platelets exposed to epinephrine : role of glycoproteins I_b/III_a and dual role of epinephrine*, Proc Natl Acad Sci USA, 83 (2), pp. 9197-9201.
- Becker WM, Reece JB, Poenie MF, 1999. *The World of The Cell*, 3rd ed., The Benjamin/Cummings Publ Comp, California, pp. 278-288.
- Berne RM, Levy MN, 1992. *Physiology*, 3rd ed., Int. ed., pp. 339-357, 971-7.
- Bonnefoy A, Liu Q, Legrand C, Frojmovic MM, 2003. *Efficiency of Platelet Adhesion to Fibrinogen Depends on both Cell Activation and Flow*, Biophys J, 78 (6), pp. 2834-2843.
- Borne AEG, Porcelijn L, Foldman C, Oudenrijn SVD, Linthorst GE, Schoot CE, Haas MD, 1998. *Thrombopoietin : modes of action, role in platelets disorders and new drug*, <http://www.slz.nl/hora/literatu/pages/1998/tpo.htm>.
- Camacho A, Dimsdale JE, 2000. *Platelet and Psychiatry : Lessons Learned From Old and New Studies*, Psychosom Med, 62 (3), pp. 326-336.
- Cass N, Cass L, 1996. *Pharmacology for Anaesthetic*, Churchill Livingstone, New York, pp. 119-125.

- Chow TW, Hellums JD, Moake JL, Kroll MH, 1992. *Shear stress-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib initiates calcium influx associated with aggregation*, Am Soc of Hem, 80 (1), pp. 113-120.
- Crouch MF, Lapetina EG, 1988. *Spacial isolation of protein kinase C activation on thrombin stimulated human platelets*. Biochem Biophys Res Com, no. 156, pp. 149-56.
- Diest V, Bruggeman, 2003. *Acta Neuropsychiatrica* from Heart and Mind Conference, Maastricht.
- Esplugues JV, 2002. NO as a signalling molecule in the nervous system, British J of Pharm, 135 (5), Nature Publ Group, pp. 1079-1095.
- Freeman K, Farrow S, Schmaier A, Freedman R, Schork T, Lockette W, 1995. *Genetic polymorphism of the α_2 -adrenergic receptor is associated with increased platelets aggregation, baroreceptor sensitivity, and salt excretion in normotensive humans*. Am J Hypertens, 8 (2), pp. 863-869.
- Fox SI, 1999. *Human Physiology*, 6th ed., WCB McGraw Hill, Dubuque IA , pp. 371-375.
- Ganong WF, 2001. *Review of Medical Physiological*, 20th Ed., Lange Med Books/McGraw Hill Med Publ Div, San Francisco, pp. 344-348, 514-527.
- Ganong WF, 2004. *Review of Medical Physiological*, 21th Ed., Lange Med Books/McGraw Hill, Med Publ Div, San Francisco, pp. 109-118.

- Gear ARL, Suttitanamongkol S, Viisoreanu D, Grabowska RKP, Raha S, Camerini D, 2001. *Adenosine diphosphate strongly potentiates the ability of the chemokines MDC, TARC and SDF-1 to stimulate platelet function*, Blood J, 97 (4), pp. 937-945.
- Geiger, J., Nolte, C., Walter, U., 1994. *Regulation of calcium mobilization and entry in human platelets by endothelium derived factors*, AJP, 276 (3), pp. 236-244.
- Guyton AC, Hall JE, 2000. *Textbook of Medical Physiology*, 10th ed., WB. Saunders Comp, New York, pp. 419-429, 699-707.
- Higgins JE, Klinbaum AP, 1985. *Design Methodology for Randomized Clinical Trial's, Part II of The Series of The Basic of Randomized Clinical Trial with a Emphasis on Contraceptive Research*, Family Health Int, New York, pp. 24-25.
- Holmsen H, 1994. *Significance of testing platelets function in vitro*, Eur J Clin Invest, 24 (1), pp. 3-8.
- Italiano JE, Lecine P, Shivdasani RA, Hartwig JH, 1999. *Blood Platelets Are Assembled Principally at the Ends of Proplatelets Processes Produced by Differentiated Megakaryocyte*, Cell Bio J, 147 (6), pp. 1299-1312.
- Johnson LR, 1992. *Essential Medical Physiology*, Raven Press, New York, pp. 599-603.
- Joyce PR, Nicholls MG, Donald RA, 1984. *Methyl phenidate increases heart rate, blood pressure, and plasma epinephrine in normal subject*, Life Science, 34 (18), Pergamon Press Ltd, pp. 1707-1711.

- Kanel RV, Mills PJ, Fainman C, Dimsdale JE, 2001. *Effect of Psychological Stress and Psychiatric Disorder on Blood Coagulation and Fibrinolysis*, *Psychosom Med*, 63 (4), pp. 531-544.
- Katzung BG, 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*, 8th ed., Lange Medical Book, Prentice Hall Int Inc., USA, pp. 124-131.
- Kusumawati D, 2003. *Bahan ajar tentang HEWAN COBA*, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, pp. 11-12, 22, 67, 87.
- Kobilka BK, Matsui H, Kobilka TS, Yang TL, Feng TL, Francke U, Caron MG, 1987. *Cloning, sequencing and expression of the gene coding for human platelet α_2 -adrenergic receptor*, *Scie*, 238, pp. 650-656.
- Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, 1999. *Winthrope's Clinical Hematology*, 10th ed., Lippincott Williams & Wilkins – A Wolters Kluwer Comp, Baltimore, pp. 1562-1569.
- Nakamura T, Ariyoshi H, Kambayashi J, Ikeda M, Shinoki N, Kawasaki T, 1997. *Signal transduction system in epinephrine stimulated platelets, comparison between epinephrine sensitive and insensitive platelets*, *Thromb Res*, 85, pp. 83-93.
- Nillson UK, Svenson SPS, Grenegard M, 2002. *Synergistic activation of human platelets by lysophosphatidic acid and adrenalin*, *Haematologica*, 87 (7), http://www.haematologica.ws/2002_07/730.htm, pp. 730-779.
- Ober WC, Garrison CW, Silverthone AC, 2001. *Human Physiology, An Integrated Approach*, 2nd ed., Prentice Hall, New Jersey, pp. 332-335, 486-492.

- Patel KP, Li YF, Hirooka Y, 2001. *Role of Nitric Oxide in Central Sympathetic Outflow*, Exp Bio and Med, 226, pp. 814-824.
- Seelig MS, 1994. *Consequences of Magnesium Deficiency on the Enhancement of Stress Reaction, Preventive and Therapeutic Implication (A Review)*, Am Coll of Nutr J, 13 (5), pp. 429-446.
- Shapiro AD, 1999. *Platelets Function Disorder*, in Treatment Hemophilia Monograph Series, No. 19, World Federation of Hemophili, pp. 1-11.
- Spalding A, Vaitkevicius H, Dill S, Mackenzi S, Schmaier A, Lockette W, 1998. *Mechanism of Epinephrine-Induced Platelet Aggregation*, Hypertension, 31, pp. 603-607.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S, 1998. *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, pp. 3-10.
- Soebrata GR, 1995. *Penuntun Laboratorium Klinik*, Penerbit DIAN RAKYAT, Jakarta, pp. 35-37, 58-60.
- Sperelakis N, 1998. *Cell Physiology*, 2nd ed., USA Academic Press, New York, pp. 303.
- Steen VM, Holmsen H, Aarbakke G, 1993. *The platelet stimulating effect of adrenaline through α 2-adrenergic receptors requires simultaneous activation by a true stimulatory platelet agonist. Evidence that adrenaline per se dose not induce human platelet activation in vitro*, Thromb Haemost, 70, pp. 506-13.

- Thomson, 2003. *Micromedex Thomson Healthcare All Rights Reserved, Health Drug Index : Bronchodilators, Adrenergic (Oral/Injection) Overview*, Yahoo, 11/09/03, pp. 1-7.
- Vander A, Sherman J, Luciano D, 2001. *Human Physiology, The Mechanism of Body Function*, McGraw Hill, San Francisco, pp. 219-221, 380, 452-460.
- Venkataraman BV, Rani MAN, 1992. *Platelets and Antiplatelets Drug*, Indian Pharm J, 24; pp. 188-95.
- Wade A, Reynold JEF, 1978. *Martindale, The Extra Pharmacopedia*, 27st ed., The Pharma Press, London, p. 417.
- Wang X, Yanagi S, Yang C, Inatome R, Yamamura H, 1997. *Tyrosine phosphorylation and Syk activation are involved in thrombin –induced aggregation of epinephrine-potentiated platelets*, J Biochem, Tokyo, 121, pp. 325-330.
- Zainuddin M, 2002. *Metodologi Penelitian, Program Pascasarjana Universitas Airlangga*, pp. 23-29, 38-52.
- Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Robert JL, Squire LR, 1999. *Fundamental Neuroscience*, USA Academic Press, San Diego, pp. 1137-47.

LAMPIRAN

Lampiran 1.

Pemeriksaan jumlah platelet dengan cara Rees & Ecker (Soebrata, 1995) :

1. Menyiapkan larutan Rees Ecker yang berisi natrium sitrat 3,8 gr; larutan formaldehide 40% 2 ml; brilliantcresylblue 30 mg; aquadest ad 100 ml.
Larutan disaring terlebih dahulu sebelum digunakan.
2. Menghisap cairan Rees Ecker dengan pipet eritrosit sampai garis tanda "1" dan membuang lagi cairan tersebut.
3. Menghisap darah sampai tanda "0,5" dan cairan Rees Ecker sampai "101" dan mengocok segera selama 3 menit.
4. Meletakkan kamar hitung Inprove Neubauer yang bersih dan kering beserta kaca penutup dalam posisi mendatar di atas meja.
5. Membuang semua cairan yang ada pada batang pipet eritrosit (3 atau 4 tetes), kemudian menyentuhkan ujung pipet dengan sudut 30° pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Biarkanlah kamar hitung terisi cairan secara perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri, dan biarkanlah kamar hitung yang telah diisi dengan sikap datar dalam cawan petri selama 10 menit agar platelet mengendap.
6. Menghitung seluruh platelet dalam seluruh bidang kasar di tengah-tengah (1 mm^2) menggunakan lensa-lensa dengan obyektif besar.
7. Jumlah yang diperoleh dikali 1000 akan menghasilkan jumlah platelet per μl darah.
8. Jumlah platelet normal : 150.000 – 400.000/ μl darah.

Lampiran 2.

Pemeriksaan waktu protrombin dengan cara Quick (Soebrata, 1995) :

A. Membuat plasma

1. Menyiapkan tabung sentrifuge, kemudian ke dalam tabung sentrifuge yang bergaris dimasukkan 0,5 ml larutan natrium sitrat 3,8%.
2. Melakukan pungsi vena dan darah yang telah diperoleh tadi dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge sebanyak 3 ml, kemudian dicampur hingga rata.
3. Tabung sentrifuge dipusingkan selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm, selanjutnya memisahkan plasma dari sel-sel darah. Bila plasma tidak dapat segera diperiksa, maka plasma dapat disimpan di dalam lemari es, namun mesti diingat bahwa pemeriksaan harus dilakukan dalam waktu 2 jam setelah darah diambil.

B. Penetapan :

1. Menyiapkan tabung serologi 13 x 10 mm, dimasukkan ke dalam air bersuhu 37°C.
2. Ke dalam tabung serologi dimasukkan 0,1 ml plasma dan ditunggu sampai plasma bersuhu 37°C pula.
3. Kemudian menambahkan tromboplastin ke dalam tabung dan mencampurnya.
4. Selanjutnya ke dalam campuran itu ditambahkan 0,1 ml larutan CaCl_2 0,22%. Stopwatch dijalankan tepat pada saat larutan CaCl_2 dimasukan, dan dicampur.
5. Ditunggu selama 10 detik kemudian diperiksa apakah sudah terbentuk fibrin, dengan cara berkali-kali memancing menggunakan kaitan logam dalam campuran tadi.

6. Stopwatch dihentikan pada saat terbentuk fibrin, waktu tersebut menunjukkan waktu protrombin.

Lampiran 3.

1. Perhitungan dosis epinefrin (Kusumawati, 2003) :

$$\begin{aligned} \text{Kelinci BB 1 kg, faktor konversi} &= 1/1,5 \times 0,07 \\ &= 0,7/15 \\ &= 0,04. \end{aligned}$$

Dosis epinefrin pada manusia : 0,3 mg/hari (Thomson, 2003)

$$\begin{aligned} \text{Dosis epinefrin hewan coba} &= 0,3 \times 0,04 \\ &= 0,012 \\ &= 0,01 \text{ mg/kg.} \end{aligned}$$

Kelinci 2,5 kg volume obat yang akan diberikan secara iv adalah 2,5 ml.

Kelinci 1 kg volume obat yang akan diberikan adalah :

$$1000/2500 \times 2,5 \text{ ml} = 1 \text{ ml/kg.}$$

Dosis epinefrin untuk hewan coba = 0,01 mg/ml/kg BB kelinci.

2. Cara membuat larutan epinefrin :

- sediaan obat epinefrin : 1 mg/ml.

- dosis epinefrin untuk hewan coba : 0,01 mg/ml/kg BB kelinci.

$$\begin{aligned} \text{- dilakukan pengenceran : } \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} &: \frac{0,01 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \times \frac{1 \text{ ml}}{0,01 \text{ mg}} \\ &= 100 \text{ x.} \end{aligned}$$

- sediaan obat epinefrin 1 mg/ml diencerkan hingga : 1 ml x 100 = 100 ml.

- sediaan obat epinefrin 1 mg/ml ditambah PZ sebanyak 99 ml hingga

volumenya menjadi 100 ml dan didapatkan sediaan obat baru dengan dosis

0,01 mg dalam tiap 1 ml.

Lampiran 4.

1. Perhitungan dosis kortisol (Kusumawati, 2003) :

$$\begin{aligned} \text{Kelinci BB 1 kg, faktor konversi} &= 1/1,5 \times 0,07 \\ &= 0,7/15 \\ &= 0,04. \end{aligned}$$

Dosis kortisol pada manusia : 100 mg/hari (UpJohn, 2003).

$$\begin{aligned} \text{Dosis kortisol hewan coba} &= 100 \times 0,04 \\ &= 4 \text{ mg/kg.} \end{aligned}$$

Kelinci 2,5 kg volume obat yang akan diberikan secara iv adalah 2,5 ml.

Kelinci 1 kg volume obat yang akan diberikan adalah :

$$1000/2500 \times 2,5 \text{ ml} = 1 \text{ ml/kg.}$$

Dosis kortisol untuk hewan coba = 4 mg/ml/kg BB kelinci.

2. Cara membuat larutan kortisol :

- sediaan obat kortisol : 100 mg/2 ml.

- dosis kortisol untuk hewan coba : 4 mg/ml/kg BB kelinci.

$$\begin{aligned} \text{- dilakukan pengenceran : } \frac{100 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} : \frac{4 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} &= \frac{100 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times \frac{1 \text{ ml}}{4 \text{ mg}} \\ &= 12,5 \text{ x.} \end{aligned}$$

- sediaan obat kortisol 100 mg/2 ml diencerkan hingga : $2 \text{ ml} \times 12,5 = 25 \text{ ml}$.

- sediaan obat kortisol 100 mg/ml ditambah PZ sebanyak 23 ml hingga

volumenya menjadi 25 ml dan didapatkan sediaan obat baru dengan dosis 4 mg dalam tiap 1 ml.

Lampiran 5.

Tabel 1 : Konversi perhitungan dosis untuk beberapa jenis hewan dan manusia.
(Laurence dan Bacharah, 1964 cit Kusumawati, 2003).

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Lampiran 6.

Tabel 2 : Volume maksimal yang dapat diberikan pada beberapa spesies hewan
(Ritchel, 1974)

Spesies	Subkutan	Intramuskular	Intraperitoneal	Intravena	Per oral
Mencit 20-30 g	0,5-1 ml	0,05 ml	1 ml	0,5 ml	1 ml
Tikus 100 g	2-5 ml	0,1 ml	2-5 ml	1 ml	5 ml
Hamster 50 g	2,5 ml	0,1 ml	1-2 ml	0,3 ml	2,5 ml
Kelinci 2,5 kg	5-10 ml	0,5-1 ml	10-20 ml	5-10 ml	20 ml
Kucing 3 kg	5-10 ml	1 ml	10-20 ml	5-10 ml	50 ml
Anjing 5 kg	10 ml	5 ml	20-50 ml	10-20 ml	100 ml
Merpati 300 g	2 ml	0,5 ml	2 ml	2 ml	10 ml

Lampiran 7.

Data Hasil Pengukuran Jumlah Platelet dan Waktu Protrombin

Pada Masing-masing Kelompok

7.1 Kelompok Epinefrin

Variabel	Sampel	Pre	15'	30'
Jumlah platelet (K/ μ l)	1	210	170	215
	2	245	170	220
	3	140	90	75
	4	190	100	100
	5	290	140	260
	6	220	165	385
	7	565	285	405
Waktu protrombin (dt)	1	7,0	8,9	9,1
	2	12,3	7,0	7,3
	3	10,3	6,5	9,0
	4	-	8,6	6,9
	5	9,0	8,1	7,1
	6	8,3	6,2	7,0
	7	12,3	6,3	6,4

7.2 Kelompok Kortisol

Variabel	Sampel	Pre	15'	30'
Jumlah platelet (K/ μ l)	1	210	200	150
	2	24,5	210	180
	3	205	200	125
	4	160	167	135
	5	200	-	-
	6	100	-	510
	7	240	325	330
Waktu protrombin (dt)	1	15,6	9,8	7,5
	2	8,7	10,0	7,3
	3	8,5	5,3	6,2
	4	9,3	6,0	4,3
	5	10,3	6,1	5,3
	6	-	7,1	7,0
	7	8,3	8,1	7,1

7.3 Kelompok Plasebo

Variabel	Sampel	Pre	15'	30'
Jumlah platelet (K/ μ l)	1	212	185	190
	2	280	270	260
	3	142	210	190
	4	216	295	220
	5	175	280	325
	6	150	405	430
	7	150	-	285
Waktu protrombin (dt)	1	6,3	8,3	6,2
	2	9,0	9,9	9,3
	3	8,0	8,9	8,0
	4	9,0	9,8	6,8
	5	6,0	6,3	7,1
	6	9,3	9,1	8,1
	7	9,3	9,3	8,0

Lampiran 8.

Hasil Analisis Deskriptif**8.1 Analisis deskriptif variabel jumlah platelet kelompok Epinefrin****Descriptive Statistics^a**

	Mean	Std. Deviation	N
PLATELET PRE	265.71	139.83	7
PLATELET 15'	160.00	64.23	7
PLATELET 30'	237.14	126.78	7

a. KELOMPOK = EPINEFRIN

8.2 Analisis deskriptif variabel jumlah platelet kelompok Kortisol**Descriptive Statistics^a**

	Mean	Std. Deviation	N
PLATELET PRE	212.00	34.02	5
PLATELET 15'	220.40	60.69	5
PLATELET 30'	184.00	84.22	5

a. KELOMPOK = KORTISOL

8.3 Analisis deskriptif variabel jumlah platelet kelompok Plasebo**Descriptive Statistics^a**

	Mean	Std. Deviation	N
PLATELET PRE	195.83	51.35	6
PLATELET 15'	274.17	77.03	6
PLATELET 30'	269.17	93.83	6

a. KELOMPOK = PLACEBO

8.4 Analisis deskriptif variabel waktu protrombin kelompok Epinefrin

Descriptive Statistics^a

	Mean	Std. Deviation	N
WKT PROTHROMBIN PRE	9.867	2.166	6
WKT PROTHROMBIN 15'	7.000	1.000	6
WKT PROTHROMBIN 30'	7.817	1.102	6

a. KELOMPOK = EPINEFRIN

8.5 Analisis deskriptif variabel waktu protrombin kelompok Kortisol

Descriptive Statistics^a

	Mean	Std. Deviation	N
WKT PROTHROMBIN PRE	10.117	2.782	6
WKT PROTHROMBIN 15'	7.550	2.046	6
WKT PROTHROMBIN 30'	6.283	1.272	6

a. KELOMPOK = KORTISOL

8.6 Analisis deskriptif variabel waktu protrombin kelompok Plasebo

Descriptive Statistics^a

	Mean	Std. Deviation	N
WKT PROTHROMBIN PRE	8.129	1.423	7
WKT PROTHROMBIN 15'	8.800	1.229	7
WKT PROTHROMBIN 30'	7.929	1.029	7

a. KELOMPOK = PLACEBO

Lampiran 9.**Hasil Uji Normalitas****9.1 Hasil uji normalitas variabel jumlah platelet kelompok Epinefrin****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PLATELET PRE	PLATELET 15'	PLATELET 30'
N		7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	265.71	160.00	237.14
	Std. Deviation	139.83	64.23	126.78
Most Extreme Differences	Absolute	.288	.295	.164
	Positive	.288	.295	.146
	Negative	-.184	-.138	-.164
Kolmogorov-Smirnov Z		.763	.781	.434
Asymp. Sig. (2-tailed)		.606	.575	.992

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = EPINEFRIN

9.2 Hasil uji normalitas variabel jumlah platelet kelompok Kortisol**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PLATELET PRE	PLATELET 15'	PLATELET 30'
N		7	5	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	194.29	220.40	238.33
	Std. Deviation	50.20	60.69	152.93
Most Extreme Differences	Absolute	.260	.368	.315
	Positive	.156	.368	.315
	Negative	-.260	-.189	-.229
Kolmogorov-Smirnov Z		.687	.823	.772
Asymp. Sig. (2-tailed)		.733	.507	.590

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KORTISOL

9.3 Hasil uji normalitas variabel jumlah platelet kelompok Plasebo

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PLATELET PRE	PLATELET 15'	PLATELET 30'
N		7	6	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	189.29	274.17	271.43
	Std. Deviation	49.98	77.03	85.86
Most Extreme Differences	Absolute	.213	.227	.171
	Positive	.213	.227	.154
	Negative	-.172	-.145	-.171
Kolmogorov-Smirnov Z		.563	.555	.454
Asymp. Sig. (2-tailed)		.910	.917	.986

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = PLACEBO

9.4 Hasil uji normalitas variabel waktu protrombin kelompok Epinefrin

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		WKT PROTHROM BIN PRE	WKT PROTHROM BIN15'	WKT PROTHROM BIN 30'
N		6	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.867	6.986	7.929
	Std. Deviation	2.166	.914	1.048
Most Extreme Differences	Absolute	.203	.307	.168
	Positive	.155	.307	.154
	Negative	-.203	-.195	-.168
Kolmogorov-Smirnov Z		.497	.813	.444
Asymp. Sig. (2-tailed)		.966	.523	.989

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = EPINEFRIN

9.5 Hasil uji normalitas variabel waktu protrombin kelompok Kortisol

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		WKT PROTHROM BIN PRE	WKT PROTHROM BIN 15'	WKT PROTHROM BIN 30'
N		6	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.117	7.486	6.386
	Std. Deviation	2.782	1.876	1.192
Most Extreme Differences ^c	Absolute	.307	.199	.268
	Positive	.307	.199	.176
	Negative	-.257	-.177	-.268
Kolmogorov-Smirnov Z		.752	.525	.710
Asymp. Sig. (2-tailed)		.624	.945	.695

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KORTISOL

9.6 Hasil uji normalitas variabel waktu protrombin kelompok Plasebo

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		WKT PROTHROM BIN PRE	WKT PROTHROM BIN15'	WKT PROTHROM BIN 30'
N		7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.129	8.800	7.929
	Std. Deviation	1.423	1.229	1.029
Most Extreme Differences	Absolute	.301	.247	.242
	Positive	.205	.185	.148
	Negative	-.301	-.247	-.242
Kolmogorov-Smirnov Z		.797	.653	.640
Asymp. Sig. (2-tailed)		.549	.788	.807

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = PLACEBO

Lampiran 10.

Hasil Uji Multivariat (Manova)

10.1 Uji multivariat variabel jumlah platelet kelompok Epinefrin

Multivariate Tests^{b,c}

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
WAKTU	Pillai's Trace	.693	5.639 ^a	2.000	5.000	.052
	Wilks' Lambda	.307	5.639 ^a	2.000	5.000	.052
	Hotelling's Trace	2.256	5.639 ^a	2.000	5.000	.052
	Roy's Largest Root	2.256	5.639 ^a	2.000	5.000	.052

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: WAKTU

c. KELOMPOK = EPINEFRIN

Dilanjutkan dengan Pairwise Comparison :

Pairwise Comparisons^b

Measure: MEASURE_1

(I) WAKTU	(J) WAKTU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PRE	15'	105.714	32.190	.017
	30'	28.571	38.106	.482
15'	30'	-77.143	30.973	.047

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. KELOMPOK = EPINEFRIN

10.2 Uji multivariat variabel jumlah platelet kelompok Kortisol

Multivariate Tests^{b,c}

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
WAKT U	Pillai's Trace	.816	6.643 ^a	2.000	3.000	.079
	Wilks' Lambda	.184	6.643 ^a	2.000	3.000	.079
	Hotelling's Trace	4.429	6.643 ^a	2.000	3.000	.079
	Roy's Largest Root	4.429	6.643 ^a	2.000	3.000	.079
	Root					

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: WAKTU

c. KELOMPOK = KORTISOL

Dilanjutkan dengan Pairwise Comparison :

Pairwise Comparisons^b

Measure: MEASURE_1

(I) WAKTU	(J) WAKTU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PRE	15'	-8.400	20.336	.701
	30'	28.000	30.846	.415
15'	30'	36.400	13.132	.050

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. KELOMPOK = KORTISOL

10.3 Uji multivariat variabel jumlah platelet kelompok Plasebo

Multivariate Tests^{b,c}

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
WAKTU	Pillai's Trace	.468	1.762 ^a	2.000	4.000	.283
	Wilks' Lambda	.532	1.762 ^a	2.000	4.000	.283
	Hotelling's Trace	.881	1.762 ^a	2.000	4.000	.283
	Roy's Largest Root	.881	1.762 ^a	2.000	4.000	.283

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: WAKTU

c. KELOMPOK = PLACEBO

Dilanjutkan dengan Pairwise Comparison :

Pairwise Comparisons^b

Measure: MEASURE_1

(I) WAKTU	(J) WAKTU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
Pre	15'	-78.333	41.202	.116
	30'	-73.333	48.934	.194
15'	Pre	78.333	41.202	.116
	30'	5.000	16.980	.780
30'	Pre	73.333	48.934	.194
	15'	-5.000	16.980	.780

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. KELOMPOK = PLACEBO

10.4 Uji multivariat variabel waktu protrombin kelompok Epinefrin

Multivariate Tests^{b,c}

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
WAKTU	Pillai's Trace	.674	4.131 ^a	2.000	4.000	.106
	Wilks' Lambda	.326	4.131 ^a	2.000	4.000	.106
	Hotelling's Trace	2.065	4.131 ^a	2.000	4.000	.106
	Roy's Largest Root	2.065	4.131 ^a	2.000	4.000	.106

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: WAKTU

c. KELOMPOK = EPINEFRIN

Dilanjutkan dengan Pairwise comparisons :

Pairwise Comparisons^b

Measure: MEASURE_1

(I) WAKTU	(J) WAKTU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PRE	15'	2.867	1.167	.050
	30'	2.050	1.200	.148
15'	30'	-.817	.366	.076

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. KELOMPOK = EPINEFRIN

10.5 Uji multivariat variabel waktu protrombin kelompok Kortisol

Multivariate Tests^{b,c}

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
WAKTU Pillai's Trace	.742	5.756 ^a	2.000	4.000	.066
Wilks' Lambda	.258	5.756 ^a	2.000	4.000	.066
Hotelling's Trace	2.878	5.756 ^a	2.000	4.000	.066
Roy's Largest Root	2.878	5.756 ^a	2.000	4.000	.066

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: WAKTU

c. KELOMPOK = KORTISOL

Dilanjutkan dengan Pairwise comparisons :

Pairwise Comparisons^b

Measure: MEASURE_1

(I) WAKTU	(J) WAKTU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PRE	15'	2.567	1.074	.062
	30'	3.833	1.097	.017
15'	30'	1.267	.526	.061

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. KELOMPOK = KORTISOL

10.6 Uji multivariat variabel waktu protrombin kelompok Plasebo

Multivariate Tests^{b,c}

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
WAKTU Pillai's Trace	.593	3.637 ^a	2.000	5.000	.106
Wilks' Lambda	.407	3.637 ^a	2.000	5.000	.106
Hotelling's Trace	1.455	3.637 ^a	2.000	5.000	.106
Roy's Largest Root	1.455	3.637 ^a	2.000	5.000	.106

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: WAKTU

c. KELOMPOK = PLACEBO

Dilanjutkan dengan Pairwise comparisons :

Pairwise Comparisons^b

Measure: MEASURE_1

(I) WAKTU	(J) WAKTU	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PRE	15'	-.671	.278	.052
	30'	.200	.316	.550
15'	30'	.871	.331	.556

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. KELOMPOK = PLACEBO

Lampiran 11.

Hasil Uji Univariat (Anova) Respon Perubahan Akibat Perlakuan

11.1 Uji univariat terhadap variabel jumlah platelet

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PLATELET PRE	Between Groups	25592,857	2	12796.429	1.562	.237
	Within Groups	147428,3	18	8190.460		
	Total	173021,1	20			
PLATELET 15'	Between Groups	42324,467	2	21162.233	4.590	.028
	Within Groups	69154,033	15	4610.269		
	Total	111478,5	17			
PLATELET 30'	Between Groups	5183.095	2	2591.548	.171	.844
	Within Groups	257611,9	17	15153.641		
	Total	262795,0	19			

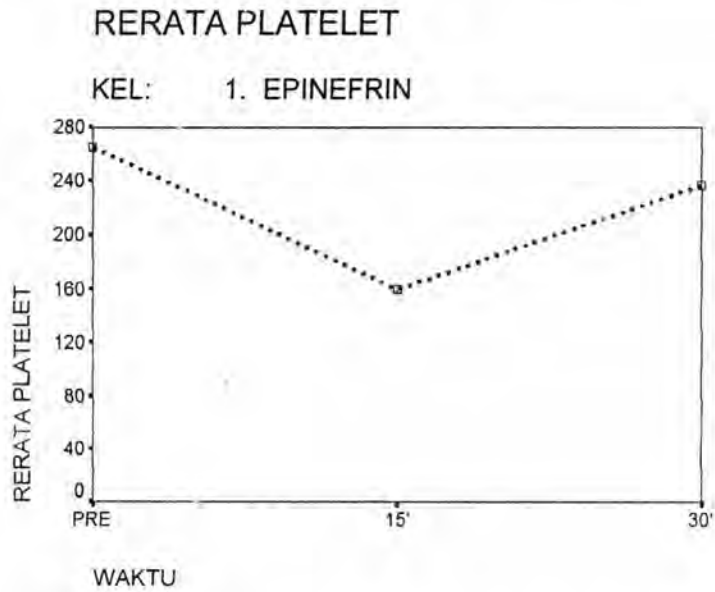
11.2 Uji univariat terhadap variabel waktu protrombin

ANOVA Table

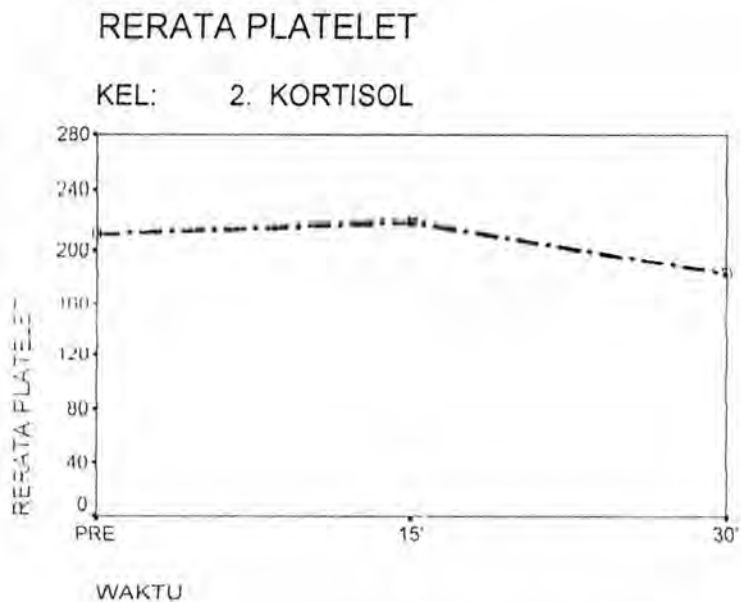
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
WKT PROTROMBIN PRE * KELOMPOK	Between Groups	15.534	2	7.767	1.673	.219
	Within Groups	74.296	16	4.643		
	Total	89.829	18			
WKT PROTROMBIN 15' KELOMPOK	Between Groups	12.294	2	6.147	3.145	.067
	Within Groups	35.177	18	1.954		
	Total	47.471	20			
WKT PROTROMBIN 30' KELOMPOK	Between Groups	11.109	2	5.554	4.655	.023
	Within Groups	21.477	18	1.193		
	Total	32.586	20			

Lampiran 12.

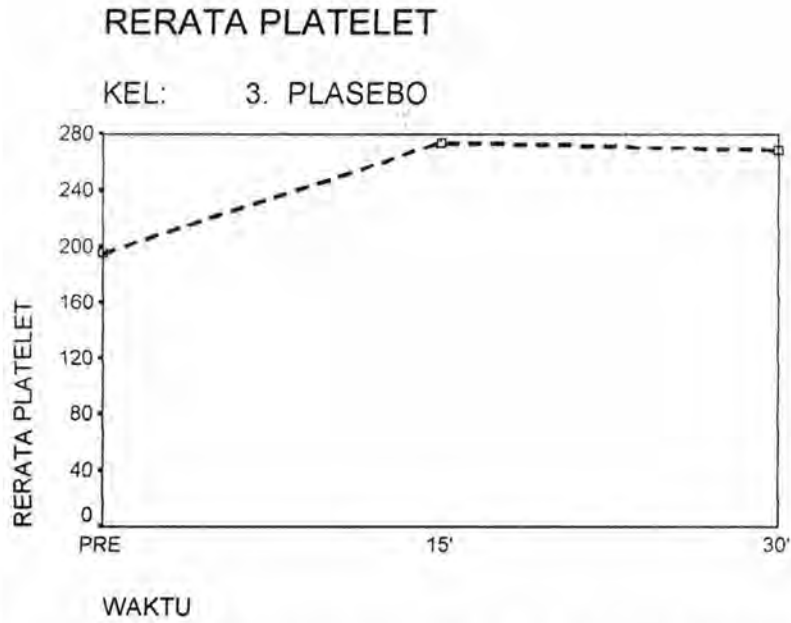
**Grafik Respon Perubahan Akibat Perlakuan
Masing-masing Variabel Setiap Kelompok**



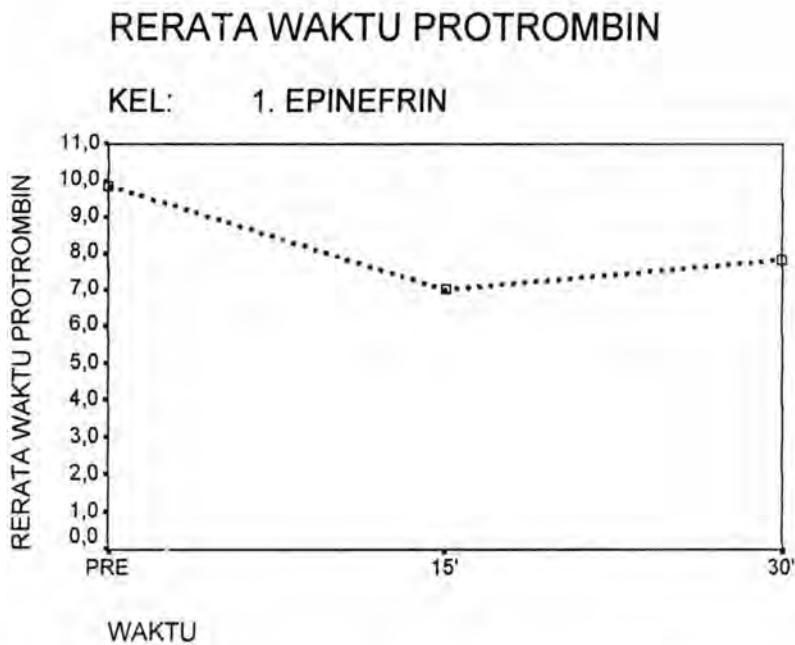
Grafik 12.1 : Rerata jumlah platelet pada Pre, 15' dan 30' pada kelompok Epinefrin.



Grafik 12.2 : Rerata jumlah platelet pada Pre, 15' dan 30' pada kelompok Kortisol.



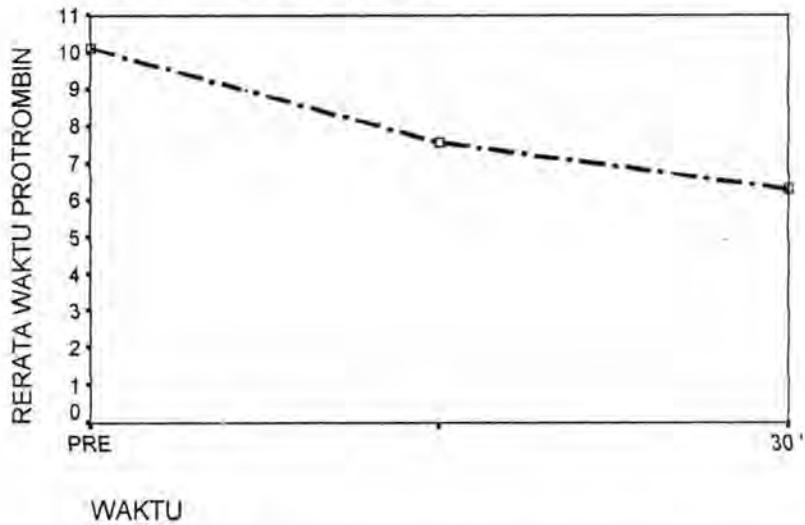
Grafik 12.3 : Rerata jumlah platelet pada Pre, 15' dan 30' pada kelompok Plasebo.



Grafik 12.4 : Rerata waktu protrombin pada Pre, 15' dan 30' pada kelompok Epinefrin

RERATA WAKTU PROTROMBIN

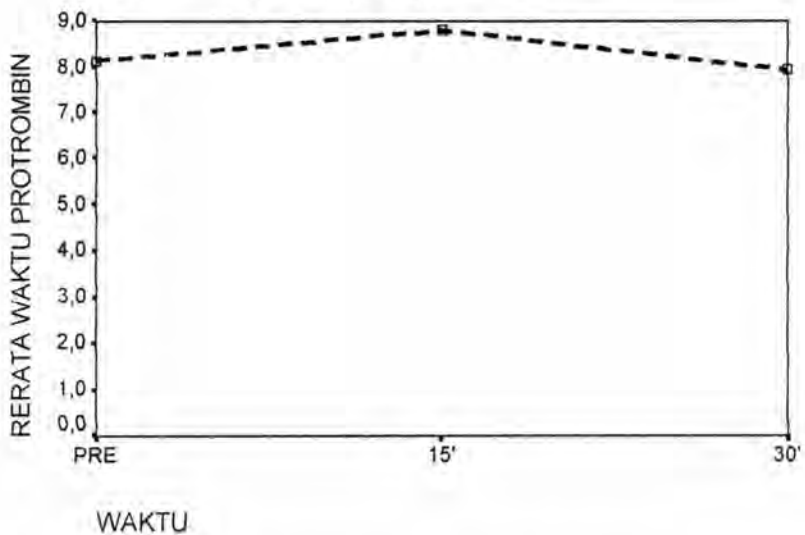
KEL: 2. KORTISOL



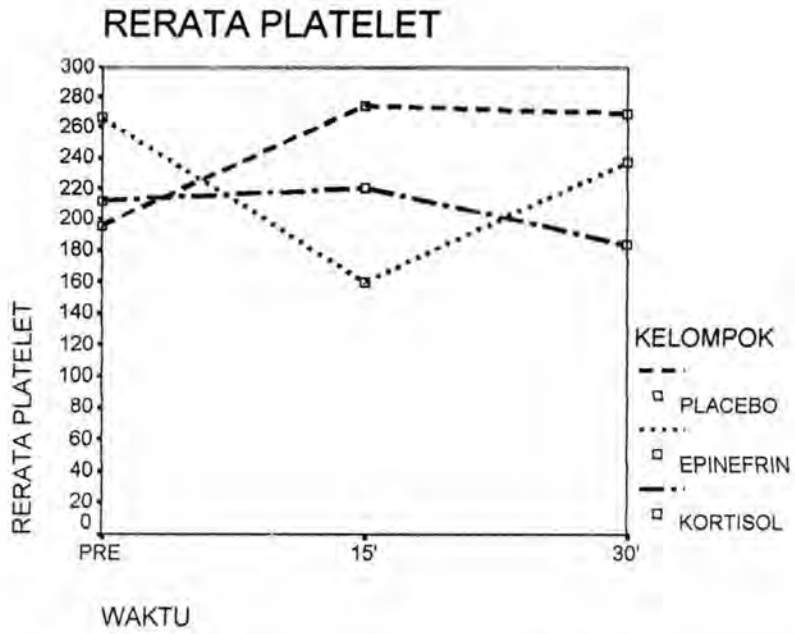
Grafik 12.5 : Rerata waktu protrombin pada Pre, 15' dan 30' pada kelompok Kortisol.

RERATA WAKTU PROTROMBIN

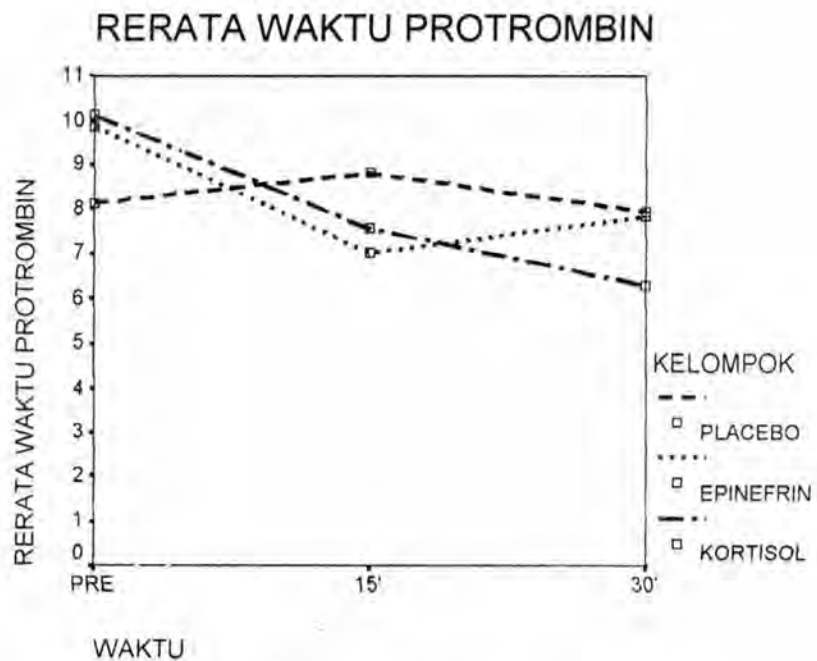
KEL: 3. PLACEBO



Grafik 12.6 : Rerata waktu protrombin pada Pre, 15' dan 30' pada kelompok Plasebo.



Grafik 12.7 : Rerata jumlah platelet pada Pre, 15' dan 30' pada semua kelompok perlakuan.



Grafik 12.8 : Rerata waktu protrombin pada Pre, 15' dan 30' pada semua kelompok perlakuan.

Lampiran 13.

Skema Pelaksanaan Penelitian