

P 6  
6 01

**SKRIPSI**

**EFEK TINDAKAN AKUPUNKTUR YANG DIDAHULUI  
INJEKSI KORTISON ASETAT TERHADAP WAKTU  
KETAHANAN RASA PANAS PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*)**



**OLEH :**

***Umi Wulandari***  
**SURABAYA - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000**

**EFEK TINDAKAN AKUPUNKTUR YANG DIDAHULUI  
INJEKSI KORTISON ASETAT TERHADAP WAKTU  
KETAHANAN RASA PANAS PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*)**

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan**

**Pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga**

**Oleh :  
UMY WULANDARI  
NIM. 069412137**

**Menyetujui  
Komisi Pembimbing**



**Hana Eliyani, Drh, M. Kes.  
Pembimbing Pertama**



**Soelistyanto, Drh.  
Pembimbing Kedua**

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,

Panitia Penguji,



**Rudy Sukanto S., M.Sc.,Drh.**

Ketua



**Ngakan Made Rai Widjaja, M.S.,Drh.**

Sekretaris



**Hana Eliyani, M.Kes.,Drh**

Anggota



**Dr. Diah Kusumawati, G., S.U.,Drh.**

Anggota



**Soelistyanto,Drh**

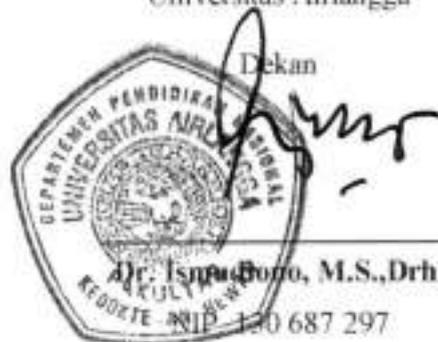
Anggota

Surabaya, 12 April 2000

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan



**Dr. Isnudinoro, M.S.,Drh.**  
NIP. 120 687 297

# DAFTAR ISI

Halaman

|   |        |
|---|--------|
| DAFTAR TABEL .....                                  | (vi)   |
| DAFTAR GAMBAR .....                                 | (vii)  |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                               | (viii) |
| KATA PENGANTAR .....                                | (ix)   |
| PENDAHULUAN .....                                   | 1      |
| I. TINJAUAN PUSTAKA .....                           | 6      |
| Teknologi Akupunktur .....                          | 6      |
| Sekresi, dan Metabolisme Kortisol Dalam Tubuh ..... | 8      |
| Preparat Kortison .....                             | 9      |
| Rasa Nyeri .....                                    | 11     |
| II. BAHAN DAN METODE PENELITIAN .....               | 13     |
| Tempat dan Waktu Penelitian .....                   | 13     |
| Bahan dan Alat Penelitian .....                     | 13     |
| Rancangan Penelitian .....                          | 13     |
| Identifikasi Variable dan Batasan Operasional ..... | 14     |
| Prosedur Penelitian .....                           | 14     |
| Analisis Data .....                                 | 16     |
| III. HASIL PENELITIAN .....                         | 17     |
| IV. PEMBAHASAN .....                                | 19     |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN .....                       | 22     |
| RINGKASAN .....                                     | 23     |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                | 25     |
| LAMPIRAN .....                                      | 28     |

## DAFTAR TABEL

| Tabel   | Halaman |
|---|---------|
| 1. Selsih Waktu Ketahanan Panas Setelah Injeksi Kortison Asetat<br>Intramuskular dengan Setelah Tindakan Akupunktur ..... | 17      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Mekanisme Kontrol Umpan Balik Sekresi Glukokortikoid .....   | 10      |
| 2. Diagram Selisih Waktu Ketahanan Panas Setelah Suntikan<br>Kortison Asetat dan Setelah Dilakukan Tindakan<br>Akupunktur pada Kelompok P0, P1, P2 dan P3 ..... | 18      |
| 3. Skema Lokasi Titik Akupunktur Kelinci Uji (Dorsal) .....   | 31      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran   | Halaman |
|--|---------|
| 1. Analisis Statistik Berdasarkan Uji BNJ 0,05 Terhadap Selisih Waktu Ketahanan Panas Pada Kelinci ..... | 29      |
| 2. Titik Akupunktur Kelinci Untuk Penurunan Nilai Ambang Rasa Panas                                      | 30      |
| 3. Alat Pengukur Nilai Ambang Rasa Panas Pada Kelinci .....  | 32      |
| 4. Kandang Hewan Coba di LP3A Surabaya .....   | 34      |
| 5. Hewan Coba Difiksasi .....  | 34      |

## KATA PENGANTAR

Segala puji hanya untuk Allah SWT. yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul Efek Tindakan Akupunktur Yang Didahului Injeksi Kortison Asetat Terhadap Waktu Ketahanan Panas Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*).

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih tak terhingga kepada Dr. Drh. Ismudiono, M. S. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Tak lupa pula rasa terima kasih penulis atas saran dan arahan dari Drh. Hana Eliyani, M. Kes. selaku pembimbing pertama dan Drh. Soelistyanto selaku pembimbing kedua serta kepada Dr. dr. Koesnadi Saputra, Sp. R. selaku pembimbing akupunktur dari LP3A. Penulis juga menyampaikan terima kasih dan penghargaan, atas dorongan semangat yang diberikan Bapak dan Ibu tercinta, Mbak Utik tersayang, serta Mas Lutfi terkasih yang sangat membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik maupun saran sangat diharapkan. Walaupun demikian, penulis mengharapkan semoga hasil - hasil yang dituangkan dalam

skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan dunia kedokteran hewan Indonesia.

Surabaya, 12 April 2000

Penulis

EFEK TINDAKAN AKUPUNKTUR YANG DIDAHULUI  
INJEKSI KORTISON ASETAT TERHADAP WAKTU  
KETAHANAN PANAS PADA KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*)

Umy Wulandari

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan mengamati penurunan waktu ketahanan panas setelah tindakan akupunktur yang disebabkan oleh injeksi kortison asetat yang mendahuluinya.

Lima ekor kelinci jantan berumur 12 hingga 15 bulan dengan berat badan 2500 hingga 3000 gram digunakan dalam penelitian ini.

Disain percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (Complete Randomized Design) yang terbagi menjadi empat perlakuan dengan lima ulangan. Data dianalisis menggunakan Analisis Ragam yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil.

Kortison asetat diberikan secara intramuskular sebelum dilakukannya tindakan akupunktur. Pada perlakuan I, hewan coba tidak diinjeksi kortison asetat. Perlakuan II, III dan IV, masing-masing diinjeksi kortison asetat dengan dosis 2.5, 5 dan 12 mg/ekor. Pengukuran waktu ketahanan panas berdasarkan lama waktuhewan coba bertahan terhadap rangsangan panas yang dipaparkan sampai terjadinya reflek menghindar. Waktu ketahanan panas diukur setelah injeksi kortison asetat dan setelah dilakukannya tindakan akupunktur.

Hasil penelitian menunjukkan kortison asetat yang diberikan secara intramuskular dilanjutkan pemberian rangsangan akupunktur menyebabkan penurunan waktu ketahanan panas pada kelinci.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1. Latar Belakang Penelitian

Pada situasi krisis ekonomi seperti saat ini, kebutuhan masyarakat akan obat-obatan dengan harga relatif murah menjadi semakin mendesak. Salah satu usaha yang dilakukan oleh pemerintah melalui Departemen Kesehatan RI adalah membentuk tim pengembangan pengobatan alternatif untuk mengkaji teknologi akupunktur. Teknik ini bersifat mudah, aman, rasional, efektif, dan murah, serta telah dikenal sejak ribuan tahun yang lalu khususnya di negara Cina (Mann, 1971;Yau,1988).

Dalam rangka mengembangkan teknik akupunktur sebagai teknologi tepat guna pada ternak diperlukan penelitian pada hewan coba. Pengamatan ini diperlukan untuk mengetahui fenomena penyembuhan melalui perubahan fisiologis yang diukur secara hormonal akibat dari perlakuan akupunktur.

Beberapa tahun terakhir telah dilakukan studi dan riset untuk penanganan kasus nyeri dengan memanfaatkan teknologi akupunktur (Han,1990). Teknologi akupunktur memiliki kelebihan dalam hal kesederhanaan peralatan maupun metode yang digunakan. Cara ini dapat sebagai alternatif lain untuk pengganti obat analgesia yang harganya relatif mahal (Saputra, 1997).

Penelitian yang pernah dilakukan membuktikan bahwa setelah menerima rangsangan akupunktur, hewan coba menjadi lebih tahan terhadap rangsangan

panas. Keadaan ini membuktikan bahwa nilai ambang rasa panas hewan coba tersebut meningkat (Adikara, 1997).

Fenomena fisiologis dalam wujud meningkatnya waktu ketahanan panas tersebut menimbulkan dugaan bahwa teknik akupunktur merangsang kelenjar adrenal untuk meningkatkan kadar kortikosteroid dalam darah. Metode Radio Immuno Assay (RIA) adalah cara paling akurat untuk memastikan adanya hormon dalam darah, namun metode ini memerlukan biaya operasional yang cukup mahal. Penelitian yang akan dilakukan adalah mengupayakan pendekatan lain yang dapat dipakai sebagai indikator terjadinya peningkatan kadar kortikosteroid karena rangsangan akupunktur. Pelacakan terhadap hormon ini diteliti dengan menyuntikkan preparat kortison asetat agar kadar kortisol dalam darah meningkat. Pada keadaan demikian bila dilakukan rangsangan akupunktur maka tidak lagi terjadi pelepasan ACTH maupun kortikosteroid, sehingga apabila waktu ketahanan panas tidak terlihat meningkat, maka diduga telah terjadi mekanisme umpan balik negatif sekresi kortikosteroid karena pembentukan kortisol terlambat (Knych *et al.*, 1986; Frohman *et al.*, 1987).

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan pendekatan teori mekanisme umpan balik negatif sekresi kortikosteroid, dapat dirumuskan suatu permasalahan apakah penurunan waktu ketahanan panas yang dihasilkan setelah tindakan akupunktur disebabkan oleh injeksi kortison asetat yang mendahuluinya?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati bahwa penurunan waktu ketahanan panas akibat tindakan akupunktur pada titik analgesia disebabkan oleh injeksi kortison asetat yang mendahului tindakan tersebut. Bila pengamatan tersebut ternyata benar maka asumsi bahwa tindakan akupunktur dapat merangsang kelenjar adrenal untuk meningkatkan kadar kortikosteroid dalam darah dapat diperkuat.

### 1.4. Landasan Teori

Injeksi kortison asetat intramuskular menyebabkan peningkatan kadar kortisol dalam darah. Selanjutnya glukokortikoid menempati reseptor di hipotalamus menyebabkan pelepasan *Corticotrophin Releasing Factor* (CRF) menjadi dihambat, dan ini berpengaruh juga pada penghambatan sekresi *Adreno Corticotrophin Hormone* (ACTH) yang diproduksi hipofisis anterior (Prosser and Brown, 1965).

Menurut yang dikutip dari skripsi Cahyani (1993), kortison asetat termasuk steroid dengan masa kerja pendek, bila diberikan secara intramuskular akan diabsorpsi satu sampai 60 menit setelah pemberian. Penelitian Liopis (1990) yang berjudul Pengaruh Kortison Asetat Untuk Tikus Putih sedang laktasi pada protein dan laktosa yang terdapat pada susu dan serum proteinnya, menggunakan dosis kortison asetat secara intramuskular antara 0,4 sampai 2,0 mg/100 g berat badan per hari.

Rangsangan fisik seperti rasa nyeri dan panas akan meningkatkan sekresi kortikosteroid ( Knych *et al.*, 1986 ; Frohman *et al.*, 1987 ). Pemberian rangsangan dari dalam maupun luar tubuh semacam tindakan akupunktur juga akan mempengaruhi pengeluaran kortikosteroid yang dihasilkan oleh kelenjar anak ginjal ( Martin *et al.*, 1987).

Tindakan akupunktur mengakibatkan terbentuknya mediator kimia dalam susunan syaraf pusat. Penyampaian rangsang frekuensi rendah ( kurang dari 10 Hz ) pada titik akupunktur mengakibatkan sistem syaraf pusat menghasilkan Endorphin sebagai zat analgesia umum, sedangkan rangsang frekuensi tinggi (lebih dari 100 Hz) akan menghasilkan Dynorphin (Han and Terenius, 1982). Kerja endorphin maupun dynorphin akan diperantarai oleh 5 Hydroxy Tryptamine (5-HT) dan Substansi Opioid Endogenous. Terbentuknya mediator kimia pada sistem syaraf pusat inilah yang menyebabkan peningkatan nilai ambang nyeri pada hewan coba (Saputra, 1997).

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan akan memberikan informasi mengenai ilmu dasar akupunktur bahwa fenomena penyembuhan yang terjadi oleh tindakan akupunktur dapat dibuktikan dengan mengamati gejala fisiologis berdasarkan perubahan hormonal dalam tubuh. Hasil penelitian ini juga dapat meyakinkan masyarakat bahwa teknologi akupunktur memiliki daya kerja yang setara dengan obat analgesia sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pilihan terapi terhadap rasa nyeri.

## **1.6. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang dapat dikemukakan bahwa penurunan waktu ketahanan panas yang dihasilkan oleh tindakan akupuntur disebabkan oleh injeksi kortison asetat yang mendahuluinya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1. Teknologi Akupunktur

Teknologi akupunktur menggunakan landasan teoritis pada sistem seluler dan molekuler, karena rangsangan dan hantaran energi atau materi yang diberikan melalui titik akupunktur diteruskan melalui kedua sistem tersebut untuk mencapai organ sasaran. Titik akupunktur mempunyai sifat kelistrikan yang berbeda dibandingkan sel di luar titik tersebut. Titik akupunktur juga lebih peka terhadap rangsangan, serta mampu menghantarkannya melalui sistem seluler tubuh (Adikara, 1994).

Saputra (1996) menemukan jalur rangsang yang menghubungkan antara titik akupunktur menuju organ sasaran dalam tubuh melalui penelitian nuklir. Isotop tekniksium disuntikkan pada titik akupunktur, selanjutnya dilacak perjalanannya menggunakan kamera gamma untuk mendapatkan pemetaan dari titik akupunktur maupun jalur rangsang tersebut.

Akupunktur cukup potensial dan relatif aman dalam penanganan kasus nyeri (Davidson, 1987). Kondisi analgesia dihantarkan dari titik akupunktur menuju sistem syaraf pusat melalui serabut syaraf A dan Beta pada rangsang frekuensi rendah (kurang dari 10 Hz). Rangsangan ini diteruskan sampai ke *Peri Aqueductal Grey Matter* untuk mengeluarkan Endorphin sebagai zat analgesia umum .

Selain itu rangsangan juga dapat melalui serabut syaraf A, Delta, dan C pada rangsang frekuensi tinggi (lebih dari 100 Hz) yang memberi efek analgesia dan mengaktivasi serabut afferen pada sistem syaraf pusat untuk meningkatkan sekresi Dynorphin pada sumsum tulang belakang (Han and Terenius, 1982).

5 Hydroxy Tryptamine (5-HT) yang dihasilkan oleh rangsangan akupunktur melalui *Nukleus Raphe Magnus* merupakan penghantar kerja endorphen. Substansi Opioid Endogenous merupakan mediator penghantar lainnya yang dihasilkan jika dilakukan rangsangan pada titik akupunktur umum frekuensi rendah (2-6 Hz) selama 20-30 menit (Saputra, 1997).

Tidak semua titik akupunktur dapat digunakan untuk menimbulkan efek analgesia pada hewan maupun manusia. Menurut Hendromartono (1997), ada dua kelompok titik akupunktur, yaitu : (1) Titik akupunktur general, meliputi ; titik usus besar terletak pada otot dorsal inter osi pertama ; titik pericardium terletak pada otot pronator quadratus; titik lambung terletak pada proksimal otot tibialis anterior; dan titik limpa terletak di atas maleolus medialis tepi belakang tibia distalis dari otot flexor hallucis longus. (2) Titik akupunktur lokal (di sekitar daerah nyeri) bertujuan memperkuat target analgesia (Han, 1990), misalnya titik di sekitar lutut untuk analgesia lutut; titik rahang untuk ekstraksi gigi; dan titik di sekitar daerah pembedahan.

Titik akupunktur pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang digunakan pada penelitian ini diuraikan berikut cara penusukannya pada lampiran. Titik *He Ku* No.39 terletak pada kaki depan metacarpal I dan II dekat dengan tepi

pertengahan metacarpal II pada kaki kiri dan kanan dapat digunakan sebagai anaesthesi untuk menurunkan panas.dengan cara mengeluarkan keringat. Sedangkan titik *Hou San Lie* No. 43 terletak pada tepi latero caudal articulatio genu antara tulang tibia dan fibula 1,2 cm tepi depan sejarak 1 cm dari tulang tibia pada kaki kiri dan kanan dapat digunakan sebagai titik akupunktur general.

## **II.2. Sekresi, dan Metabolisme Kortisol Dalam Tubuh**

Kortisol diklasifikasikan kelompok hormon steroid yang dihasilkan kelenjar adrenal. Hormon glukokortikoid yang salah satunya yaitu kortisol disintetis pada zona fasikulata adrenal. Menurut Feliq dkk. (1995) kortisol seperti halnya hormon steroid yang lain dibentuk dari kolesterol melalui oksidatif rantai samping akan terbentuk pregnenolon, kemudian setelah mengalami dehidrasi terbentuk progesteron. Progesteron oleh 17-Hidroksilase diubah 17-Hidroksiprogesteron, kemudian 12-Hidroksilase akan terbentuk 11-Deoksikortisol. Selanjutnya oleh 11-Hidroksilase diubah menjadi kortisol.

Turner dan Bagnara (1976) menyebutkan bahwa kadar glukokortikoid dalam darah dikontrol oleh ACTH yang diproduksi hipofisis anterior dan sebaliknya sekresi ACTH akan dipengaruhi oleh kadar glukokortikoid dalam darah melalui mekanisme umpan balik negatif.

Sekresi kortikosteroid dikendalikan oleh kelenjar hipotalamus melalui pengeluaran *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH) atau *Corticotropin*

*Releasing Factor* (CRF). CRF akan mempengaruhi hipofisis untuk memproduksi *Adreno Corticotrophin Hormone* (ACTH) atau kortikotropin, selanjutnya ACTH akan mempengaruhi kelenjar anak ginjal untuk mengsekresi kortikosteroid.

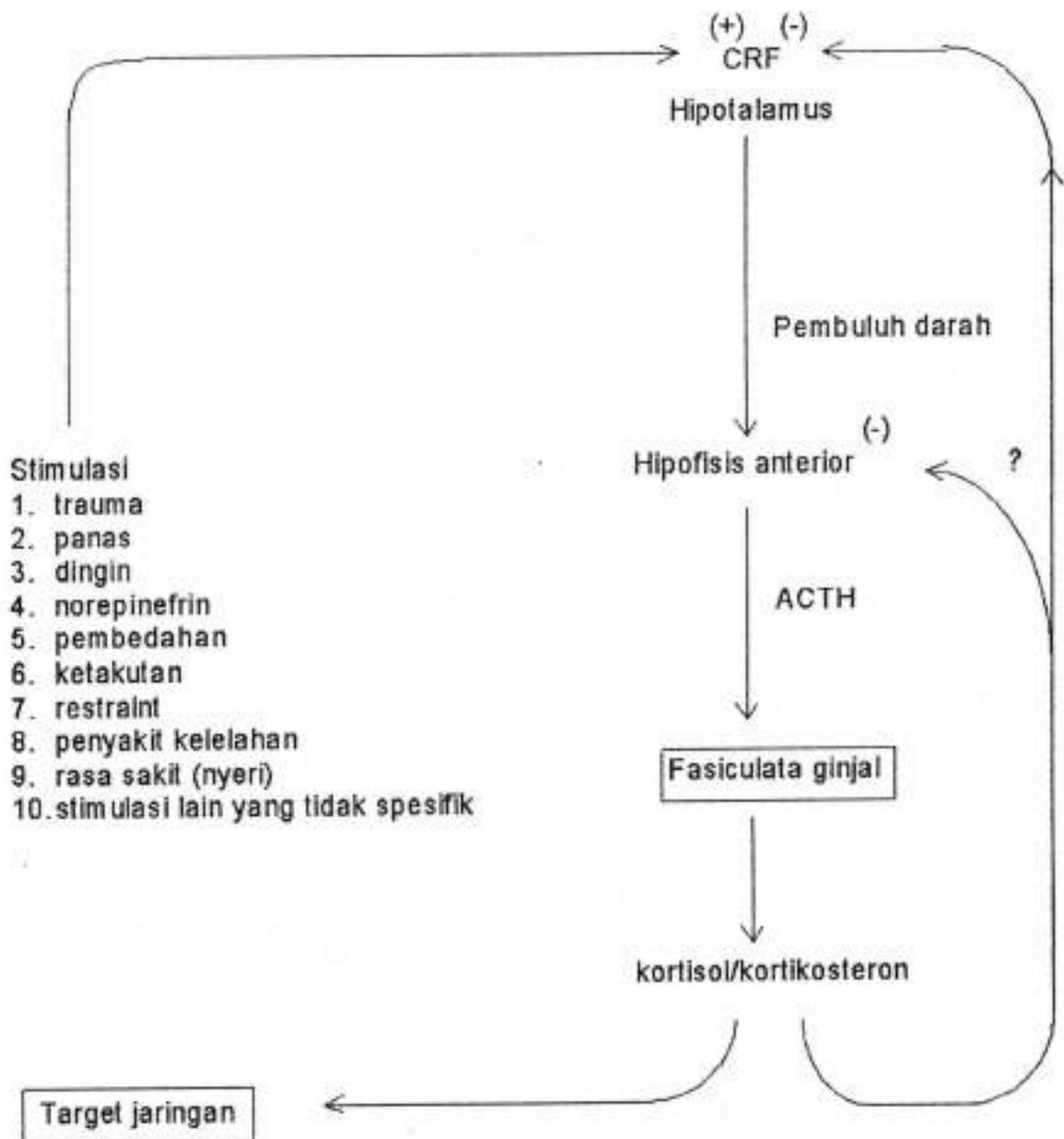
Skema pada gambar 1 menjelaskan tentang kontrol hipotalamus-hipofisis anterior dari pengeluaran glukokortikoid dan proses umpan balik serta faktor-faktor yang menyebabkan pengeluaran CRF.

Kortisol dimetabolisme di hati, direduksi menjadi dihidrokortisol, kemudian menjadi tetradihidro kortisol dan dikonjugasi menjadi asam glukoronat yang selanjutnya masuk sirkulasi darah. Kortisol yang dikonjugasi menjadi sulfat kemudian diekskresi melalui ginjal dalam bentuk 17-Kortikosterol. Melalui sirkulasi enterohepatik sebanyak 15 % kortisol diekskresi bersama feces (Baethmann *et al.*, 1982).

### II.3. Preparat Kortison

Glukokortikoid disintesis dari asam kolat yang diperoleh dari steroid sapogenin atau diosgenin dapat ditemukan pada tanaman *Liliaceaceae* dan *Dioscoreaceae* (Feldman and Nelson, 1987).

Kortison mengandung inti siklopentanoperhidrofenantren dengan struktur senyawa : 17 Alfa, 21 Dihidroksipregn -4 - Ene 3,1, 20 Trione (Ganong, 1999). Dalam bidang veteriner obat-obatan yang tergolong kortikosteroid digunakan terutama untuk kondisi akut dan pengobatan jangka pendek. Pada dasarnya penggunaan kortison adalah untuk anti radang, aksi anti alergi, dan untuk



Gambar 1. Mekanisme Kontrol Umpan Balik Sekresi Glukokortikoid  
(Sumber : Ganong, 1999)

pengobatan berbagai kondisi gangguan metabolisme ( Siegmund and Fraser, 1979).

Pemberian kortison menurut Siegmund dan Fraser (1979) dapat melalui aplikasi eksternal atau per oral, injeksi secara lokal, intravena, dan intramuskular. Kortison dalam sirkulasi terikat pada  $\alpha$ -globulin yang dinamakan transkortin atau *Corticosteroid Binding Globulin (CBG)*. Secara normal kurang lebih 75% kortison asetat dalam plasma diikat menjadi transkortin, sedangkan 10-15% dalam bentuk tidak terikat. Bagian yang tidak terikat ini merupakan bagian yang mempunyai efek fisiologis penting, karena bebas masuk dalam sel dan menimbulkan efek. Steroid yang terikat, secara fisiologis tidak aktif karena terikat oleh protein dan berfungsi sebagai cadangan hormon dalam sirkulasi yang mempertahankan suplai glukokortikoid bebas ke jaringan (Ganong, 1999).

#### II.4. Rasa Nyeri

Rasa nyeri dapat digolongkan menjadi tiga, yaitu *superficial*, *internal*, dan *visceral*. Penggolongan rasa nyeri yang lain, yaitu *pricking pain* adalah rasa nyeri yang cukup tajam, misalnya disebabkan oleh tusukan jarum dan impulsnya dihantarkan serabut syaraf tipe A-Delta; *burning pain* adalah rasa nyeri akibat terbakarnya kulit dan impulsnya dihantarkan serabut syaraf tipe C; dan *aching pain* adalah rasa nyeri mendalam dan dapat berlangsung lama, yang impulsnya dihantarkan oleh serabut syaraf tipe C ( Frandson, 1992).

Rangsangan penyebab rasa nyeri bekerja mempengaruhi reseptor rasa nyeri.

Reseptor rasa nyeri digolongkan menjadi : *kemosensitif*, *thermosensitif*, dan *mekanosensitif*. Untuk reseptor rasa nyeri *thermosensitif* mulai memberikan respon terhadap suhu di atas 45 ° C (Frandsen, 1992).

Ambang batas reaksi terhadap rasa nyeri cukup bervariasi pada setiap individu hewan meskipun sama spesiesnya. Ketika ambang batas reaksi rasa nyeri terlampaui, hewan akan menghindarkan diri dari sumber rangsangan secara refleks agar tidak terjadi kerusakan yang lebih parah (Frandsen, 1992).

Tingkat ambang batas dapat dinaikkan dengan menggunakan obat-obatan yang dapat mengurangi kepekaan terhadap rasa nyeri. Misalnya transquilizer (zat penenang) ataupun analgetika. Cara yang lain dilakukan dengan cara mengalihkan perhatian dan konsentrasi ( Frandsen, 1992).

## BAB III

### BAHAN DAN METODE PENELITIAN

#### III. 1. Tempat dan Waktu Penelitian.

Penelitian dilakukan selama satu bulan mulai tanggal 2 sampai 28 Pebruari 1999. Seluruh kegiatan berlangsung di Laboratorium Penelitian Pelayanan Pengembangan Akupunktur (LP<sub>3</sub> A) Jalan Indrapura 17 Surabaya.

#### III.2. Bahan dan Alat Penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah lima ekor kelinci jantan berumur 12 hingga 15 bulan dengan berat badan berkisar 2500 sampai 3000 gram . Hewan coba dipelihara dalam kandang individu dan diberi pakan kangkung dan pelet serta minum secara *ad libitum*. Bahan-bahan penelitian yang digunakan, yaitu ; etanol 70 %, kapas steril, syring 1 ml, dan kortison asetat solution 10 ml. Peralatan yang dibutuhkan terdiri dari : jarum akupunktur terbuat dari perak berukuran satu Cun, alat stimulator, papan fiksasi yang dilengkapi elemen pemanas bersuhu konstan 60 ° C, lempeng baja terbuat dari *stainless steel*, *stop watch*, dan rangkaian transmisi.

#### III.3. Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sama subyek,

dengan empat perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan terdiri dari injeksi kortison asetat 0; 2,5; 5; dan 12 mg/ekor (P0, P1, P2, dan P3), yang diikuti dengan perlakuan akupunktur pada titik analgesia.

#### **III.4. Identifikasi Variabel Dan Batasan Operasional**

Pada penelitian ini peubah yang mempengaruhi adalah dosis kortison asetat dan tindakan akupunktur dilakukan pada titik analgesia *Hou San Lie* dan *He Ku* yang lokasinya diuraikan di tinjauan pustaka dan lampiran. Peubah yang dipengaruhi adalah waktu ketahanan panas. Nilai ambang rasa panas adalah kemampuan hewan coba bertahan menerima rangsangan panas (Adikara, 1997). Pada penelitian ini waktu ketahanan panas ditetapkan berdasarkan selang waktu sejak hewan menerima rangsangan dari sumber panas hingga menghindari sumber panas dalam satuan detik. Kriteria tinggi atau rendahnya ketahanan panas pada penelitian ini ditunjukkan dengan lama atau tidaknya hewan coba mampu bertahan terhadap rangsangan panas.

#### **III.5. Prosedur Penelitian**

Sebelum diberi perlakuan hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan selama tiga bulan. Empat macam percobaan dilakukan pada lima ekor kelinci yang sama untuk mempersempit variasi individu mengingat penelitian ini mengamati respon hewan coba terhadap suatu rangsang. Antara satu perlakuan dengan perlakuan berikutnya diberi selang waktu istirahat selama tiga hari.

- P0 : Kelinci tanpa diinjeksi kortison asetat, diberi rangsangan panas bersuhu 60°C pada ujung hidungnya dan diukur waktu terjadinya refleks hidung menghindari sumber panas. Selanjutnya kelinci diberi rangsangan akupunktur secara elektrik pada titik *Hou San Lie* dan titik *He Ku* pada kaki kiri dan kanan, dengan frekuensi 12 Hz selama 20 menit. Langkah berikutnya, hewan coba kembali diberi rangsangan panas bersuhu 60°C pada ujung hidungnya dan diukur waktu terjadinya refleks hidung menghindari sumber panas.
- P1 : Dilakukan tiga hari kemudian, kelinci yang sama diberi injeksi kortison asetat dengan dosis 2,5 mg/ekor secara intramuskular pada *musculus gluteus medius*. Tiga puluh menit kemudian diberi rangsangan panas bersuhu 60°C pada ujung hidungnya dan diukur waktu terjadinya refleks hidung menghindari sumber panas. Selanjutnya dilakukan rangsangan akupunktur pada frekuensi 12 Hz selama 20 menit dan diberi rangsangan panas bersuhu 60°C pada ujung hidungnya serta diukur kembali waktu terjadinya refleks hidung menghindari sumber panas.
- P2 : Rangkaian tindakan sama seperti yang dilakukan pada perlakuan II. perbedaannya terletak pada dosis injeksi kortison asetat yang diberikan adalah 5 mg/ekor.

P3 : Rangkaian tindakan sama seperti yang dilakukan pada perlakuan II dan III, namun menggunakan dosis kortison asetat 12 mg/ekor.

### **III.6. Analisis Data**

Data dikoleksi dengan menghitung selisih waktu ketahanan panas setelah injeksi kortison asetat dengan setelah tindakan akupunktur. Data tersebut diuji menggunakan Analisis Ragam (Uji F). Jika ditemukan perbedaan nyata perlu dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat signifikan 5% (Kusriningrum, 1989).

Pengolahan data penelitian menggunakan fasilitas SPSS for Window.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian analisis ragam menunjukkan bahwa injeksi kortison asetat yang mendahului tindakan akupunktur menyebabkan penurunan waktu ketahanan panas diamati dengan melihat selisih waktu ketahanan panas setelah injeksi kortison asetat dengan setelah tindakan akupunktur yang semakin menurun.

Hasil penelitian ini ditampilkan pada tabel di bawah ini ,

Tabel 1 : Selisih waktu ketahanan panas setelah injeksi kortison asetat intramuskular dengan setelah tindakan akupunktur.

| Perlakuan | Selisih Waktu Ketahanan Panas<br>X ± SD (detik) |
|-----------|---|
| P 0       | + 56,77 a ± 26,46                               |
| P 1       | - 62,84 b ± 41,63                               |
| P 2       | - 204,29 c ± 90,54                              |
| P 3       | - 46,45 b ± 7,44                                |

Keterangan : Tanda (+) = meningkat

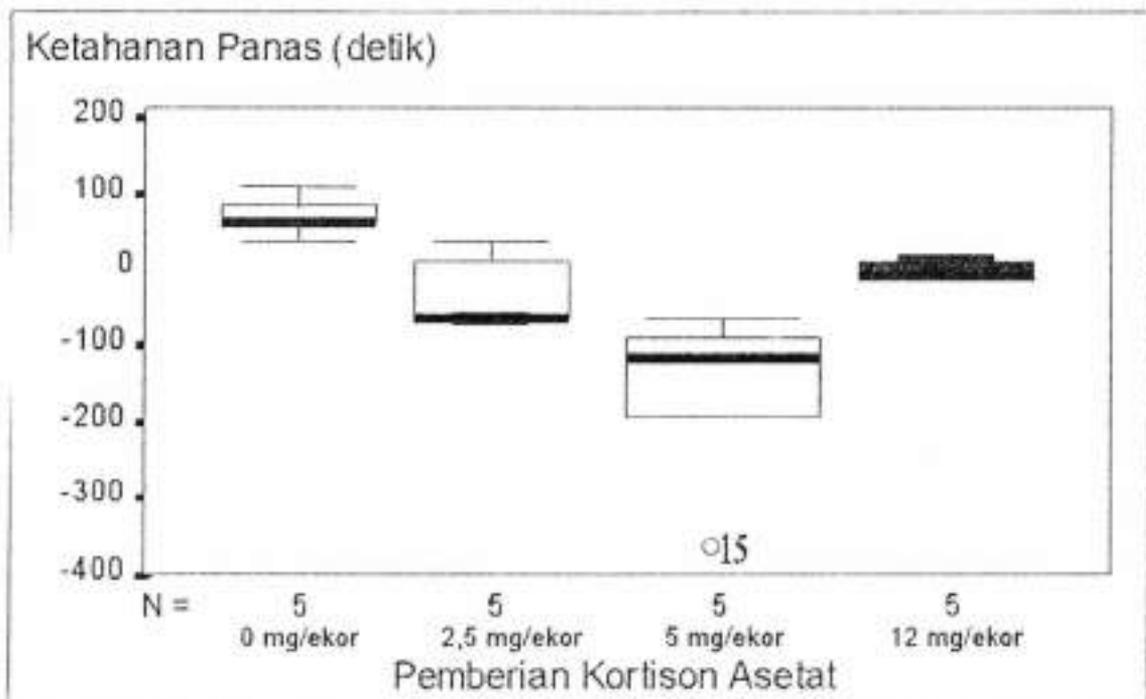
Tanda (-) = menurun

a, b, c = superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata dengan uji BNT 5 %.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) di antara diperlakukan. Pada kelompok kontrol menunjukkan tidak terjadi penurunan waktu ketahanan panas. Ini diperlihatkan dengan waktu ketahanan panas yang justru meningkat setelah akupunktur.

Pada kelompok P1, 2 da 3 terlihat ada kecenderungan dari nilai ambang rasa panas menurun. Pada perlakuan dengan injeksi kortison asetat 2,5 mg/ekor, penurunan waktu ketahanan panas sebesar 62,84. Penurunan waktu ketahanan panas yang paling mencolok diperlihatkan pada dosis injeksi kortison asetat-5 mg/ekor dengan selisih sebesar 204,29 detik. Sedangkan pada perlakuan 3, penurunan waktu ketahanan panas tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 yang menggunakan dosis injeksi kortison asetat 2,5 mg/ekor. Selisih waktu ketahanan panas perlakuan 3 sebesar 46,45 detik.

Gambar dalam bentuk diagram dibawah ini ditampilkan untuk membedakan nilai ambang rasa panas setelah suntikan kortison asetat dan setelah dilakukan tindakan akupunktur pada kelompok P0, P1, P2 dan P3.



Gambar 2 Selisih waktu ketahanan panas setelah suntikan kortison asetat dan setelah dilakukan tindakan akupunktur pada kelompok P0, P1, P2 dan P3.

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tindakan akupunktur jika tidak didahului suntikan kortison asetat ( P0 ) tidak menyebabkan penurunan waktu ketahanan panas, seperti yang terjadi pada kelompok P1, 2 dan 3.

Selisih waktu ketahanan panas kelompok P0 meningkat rata-rata 56,77 detik. Hasil ini berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok 1, 2 dan 3 yang justru mengalami penurunan. Hal ini disebabkan kelompok P0 tidak menerima perlakuan injeksi kortison asetat, sehingga tidak terjadi hambatan produksi kortisol. Fenomena fisiologis ini dinyatakan melalui respon kelinci yang lebih tahan terhadap rangsangan panas yang dipaparkan pada ujung hidungnya.

Ketahanan kelinci terhadap rangsangan panas tampak menurun jika tindakan akupunktur didahului injeksi kortison asetat, menunjukkan terjadi perubahan fisiologis tubuh secara biokimia ( Soewondo,1990 ).

Kelompok P1 mengalami penurunan waktu ketahanan panas rata-rata sebesar 62,84 detik. Angka ini adalah selisih waktu ketahanan panas setelah injeksi kortison asetat 2,5 mg/ekor dibandingkan dengan waktu ketahanan panas setelah tindakan akupunktur.

Kelompok P2 mengalami penurunan waktu ketahanan panas rata-rata sebesar 204,29 detik. Angka ini adalah selisih waktu ketahanan panas.

setelah injeksi kortison asetat 5 mg/ekor dibandingkan dengan waktu ketahanan panas setelah tindakan akupunktur.

Sedangkan kelompok III, penurunannya adalah 46,45 detik, yang merupakan selisih waktu ketahanan panas setelah injeksi kortison asetat dosis 12 mg/ekor dibandingkan dengan waktu ketahanan panas setelah tindakan akupunktur.

Kelinci lebih tahan panas jika tanpa suntikan kortison asetat. Keadaan ini disebabkan karena efek tindakan akupunktur bekerja dengan nyata tanpa ada hambatan dari efek rekayasa peningkatan kortisol dalam darah. Terjadinya analgesia akupunktur, karena hantaran dari titik akupunktur menuju sistem syaraf pusat melalui serabut syaraf A dan Beta pada rangsang frekuensi rendah (kurang dari 10 Hz). Rangsangan selanjutnya diteruskan sampai ke *Peri Aqueductal Grey Matter* untuk mengeluarkan Endorphin sebagai zat analgesia umum (Han and Terenius, 1982). Penghantar kerja dari endorphin, meliputi : 5 Hydroxy Tryptamine (5 - Ht) yang dihasilkan oleh rangsangan akupunktur melalui *Nucleus Raphe Magnus* dan Substansi Opioid Endogenous yang dihasilkan jika dilakukan rangsangan pada titik akupunktur umum frekuensi rendah ( 2 - 6 Hz) selama 20 - 30 menit ( Saputra, 1997). Titik akupunktur memberikan respon terhadap beberapa jenis rangsangan, yaitu berupa rangsangan mekanis, termis, elektrik, laser maupun magnet ( Suhariningsih, 1995 ).

Hasil yang sebaliknya ditunjukkan pada kelinci yang diberi suntikan kortison asetat sebelum dilakukan tindakan akupunktur. Suntikan tersebut menyebabkan terhambatnya respon akupunktur untuk menimbulkan efek lebih tahan panas. Kortison asetat yang diberikan sebelum dilakukan akupunktur menyebabkan peningkatan kadar kortisol dalam darah. Keadaan ini menyebabkan mekanisme umpan balik untuk menekan sekresi glukokortikoid melalui jalur CRF di hipotalamus yang akan mempengaruhi hipofisis anterior untuk menghambat produksi ACTH, selanjutnya ACTH mempengaruhi kelenjar anak ginjal untuk menghambat sekresi kortisol (Turner and Bagnara, 1976), oleh karena kadar kortisol pada saat tersebut secara fisiologis masih cukup. Pada keadaan CRF dihambat, diduga efek akupunktur yang bekerja melalui terbentuknya mediator kimia pada sistem syaraf pusat dihambat. Sehingga tidak terjadi efek analgesia yang menyebabkan kelinci lebih tidak tahan panas(Saputra, 1997).

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Injeksi kortison asetat dapat menghambat secara nyata ( $p < 0,05$ ) respon analgesia dari tindakan akupunktur. Hambatan tersebut ditunjukkan dengan semakin menurunnya waktu ketahanan panas, sehingga kelinci menjadi lebih tidak tahan terhadap panas.
2. Injeksi kortison asetat intramuskular sebesar 2,5 dan 12 mg/ekor mampu memberikan hambatan yang sama, namun dosis 5 mg/ekor menyebabkan penurunan waktu ketahanan panas secara maksimal.

#### Saran

Untuk mendukung kepastian fenomena peningkatan kadar kortisol dalam darah pada penelitian ini, diperlukan peneraankadar hormon tersebut menggunakan metode RIA ( Radio Immuno Assay ).

## RINGKASAN

**UMY WULANDARI.** Efek Tindakan Akupunktur Yang Didahului Injeksi Kortison Asetat Terhadap Waktu Ketahanan Panas Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) dibimbing oleh Hana Eliyani, Drh, M. Kes. sebagai pembimbing pertama dan Soelistyanto, Drh. sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan mengamati terjadinya penurunan waktu ketahanan panas akibat tindakan akupunktur pada titik analgesia, disebabkan oleh injeksi kortison asetat yang mendahuluinya dan membuktikan bahwa tindakan akupunktur dapat meningkatkan kortisol dalam darah.

Penelitian ini menggunakan lima ekor kelinci jantan berumur 12 hingga 15 bulan. Rencana Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, dilanjutkan Uji BNT ( Beda Nyata Terkecil ) dengan tingkat signifikan 5 %. Kortison Asetat diberikan secara intramuskular sebelum dilakukan tindakan akupunktur dengan dosis 0; 2,5; 5 dan 12 mg/ekor. Data diperoleh dengan melihat selisih waktu ketahanan panas setelah tindakan akupunktur dengan ketahanan panas setelah injeksi kortison asetat.

Hasil yang didapat menunjukkan tindakan akupunktur yang didahului injeksi kortison asetat intramuskular dosis 2,5 dan 12 mg/ekor, menyebabkan hambatan yang serupa. Pada injeksi kortison asetat dosis 5 mg/ekor menyebabkan penurunan

ketahanan panas yang maksimal. Sedangkan pada perlakuan kontrol penurunan waktu ketahanan panas tidak terjadi.

Kesimpulan yang diperoleh injeksikortisonasetat yang optimal untuk menghambat respon akupunktur pada kelinci adalah dosis 5 mg/ekor. Saran yang diajukan, sebaiknya dilakukan peneraan kadar hormon kortisol menggunakan metode RIA ( Radio Immuno Assay ), untuk mengetahui secara pasti fenomena yang diduga.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adikara, R.T.S. 1994. Pengaruh Akupunktur terhadap Produksi Susu pada Sapi Perah. Meridian I. Indonesia Journal of Acupuncture. DPD PAKSI Jatim . 3:218-221.
- Adikara, R.T.S.1997. Akupunktur Terhadap Nilai Ambang Nyeri Pada Hewan Coba Kelinci. Meridian IV. Indonesia Journal of Acupuncture. DPD PAKSI Jatim. 3:152-157.
- Baethmann, A., Oettinger, W., Moritake, K., Chaussay, L. dan Jesch, F. 1982. Metabolic Effects of Corticosteroid in Central Nervous System. In : Hartmann, A. dan Brock, M (ed.). Treatment of Cerebral Edema. Spinger-Verlag. Heidelberg.24-30.
- Cahyani, Y.W. 1993. Pengaruh Pemberian Kortison Asetat Dalam Berbagai Dosis Terhadap Aktivitas Serum Glutamat Oksaloasetat. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.4 - 9.
- Davidson. 1987. Placebo Responce In Medicine, The concepts Medical Progres. 13-17.
- Feldman, E. C dan R.W. Nelson. 1997. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. WB Saunders Company. Philadelphia London.
- Felig, P., Baxter, J. D. dan Frohman, L.A. 1995. Endocrinology and Metabolism . 3 th. Ed. Mc. Graw Hill Inc. New York. 561.
- Franson, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi Keempat. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro. Gajah Mada Univesity Press. 176 - 177.
- Frohman, L. A. dan Krieger, D.T. 1987. Neuroendocrinology and The Pituitary. In : Felig, P., Baxter, J.D., Brodous, A.E and Frohman, L.A (ed). Endocrinologi and Metabolism. Mc. Graw Hill Book Company. New York. 185 - 239.
- Ganong, W. F. 1999. Review of Medical Physiology. 9 th. Ed. A Simon and Schuster Company. Stamford. 345 - 358.
- Han and Terenius. 1982. Neurochemical Basis of Acupuncture Analgesia. Ann. Rev Pharmacol Toxicol . 22: 193 - 220
- Han, J. S. 1990. The Neurochemical Basis of Pain Relief by Acupuncture. A Collection of Paper 1973 - 1987. Beijing Medicine University. 10 - 20.

- Hendromartono. 1997. Akupunktur Untuk Nyeri Kanker. Meridian IV. Indonesia Journal of Acupuncture. DPD PAKSI Jatim. 3 : 195-204.
- Knych, E.T. and Thomas, J.A. 1986. Pituitary Hormones. In : Pradan, S.N., Maickel, R.P. and Dutta, S.N. Pharmacology in Medicine : Principles and Practice. SP. Press International Inc. 385-395.
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lyght, C. E., C. S. Keefer, D. W. Richards and W.H. Sebrell. 1961. The Marck Manual. 10 th. Ed. Merck Sharp and Dohme Research Laboratorium Philadelphia. London.
- Liopis. 1990. Influence of Hydrocortisone Acetate Administered to The Lactating Rat on Protein and Lactose Content in Milk and Serum Protein, Glucose and Insulin Level in Dams and Pups. Abstract. Horm - Metab - Res : 22 (2) : 71 - 74.
- Mann, F. 1971. Acupuncture, The Ancient Chinese Art of Healing. 2 nd. Ed. William Heinemann. Medical Book LTD. London.
- Mann, F. 1974. The Treatment of Disease by Acupuncture. William Heinemann. Medical Book LTD. London.
- Prosser and Brown. 1965. Comparative Animal Physiology. 2 nd. Ed. W.B. Saunders Company Philadelphia. London.
- Saputra, K. 1992. Acupoint Scintigraphy, Tracing Meridian Acupuncture and Corresponding Organ by Radionucleide Technique. AAR Congres VII. Bali. 1 - 2.
- Saputra, K. 1996. Profil Kelistrikan Titik Akupunktur dengan Rangsangan Sinar Laser. Meridian III. Indonesia Journal of Acupuncture. DPD PAKSI Jatim 2:74-84.
- Saputra, K. 1997 Fenomena Transduksi Sinyal dari Titik Akupunktur Untuk Pengembangan IPTEK Kedokteran. Meridian IV. Indonesia Journal of Acupuncture. DPD PAKSI Jatim.
- Siegmund, O.H. and C.M. Fraser. 1979. Merk Veterinary Manual. 5 th. Ed. Merck and Co Inc. New .York.

- Soewondo, D. 1990. Fisiologi Kelenjar Endokrin. Volume I. Penelaah : R. Sumardi Sastrakusumah. Institut Pertanian Bogor.
- Suhariningsih. 1995. Sifat Rambat Sinyal Listrik pada Meridian Usus Besar, Meridian II. Indonesia Journal of Acupuncture. DPD PAKSI Jatim.
- Turner, C.D. and J.T. Bagnara.-1976. Endocrinologi. Umum. Edisi keenam. Penerjemah : Harsojo. Airlangga University Press. Surabaya
- Yau, PS. 1988. Scalp Needling Therapy. Medicine and Health Publising Co. Hongkong.

## LAMPIRAN

## Lampiran 1 :

| Ulangan   |  | Perlakuan |          |           |          |
|-----------|--|-----------|----------|-----------|----------|
|           |  | P0        | P1       | P2        | P3       |
| 1.        |  | 28,65     | -12,22   | -172,53   | -51,87   |
| 2.        |  | 39,35     | -22,82   | -143,79   | -48,84   |
| 3.        |  | 80,37     | -88,88   | -127,98   | -38,15   |
| 4.        |  | 89,07     | -93,78   | -224,94   | -39,05   |
| 5.        |  | 46,43     | -96,50   | -352,19   | -54,35   |
| Rata-rata |  | 56,7740   | -62,8400 | -204,2860 | -46,4520 |
| Sd        |  | 26,4639   | 41,6304  | 90,5442   | 7,4355   |

## Anallsis Varlans

| Sumber Keragaman | d.b | Jumlah Kwadrat | Kwadrat Tengah | F Ratio | F Prob |
|------------------|-----|----------------|----------------|---------|--------|
| Perlakuan        | 3   | 172878,1859    | 57626,0620     | 2,5687  | 0,000  |
| Galat            | 6   | 42747,8465     | 2671,7404      |         |        |
| Total            | 19  | 215626,0324    |                |         |        |

Uji Pasangan : BNJ dengan taraf signifikansi 0,05

Dua Nilal rata-rata perlakuan berbeda jika

$$\text{MEAN (J)} - \text{MEAN(I)} \geq 36.5496 * \text{RANGE} * \text{SQRT}(1/\text{N(I)} + 1/\text{N(J)})$$

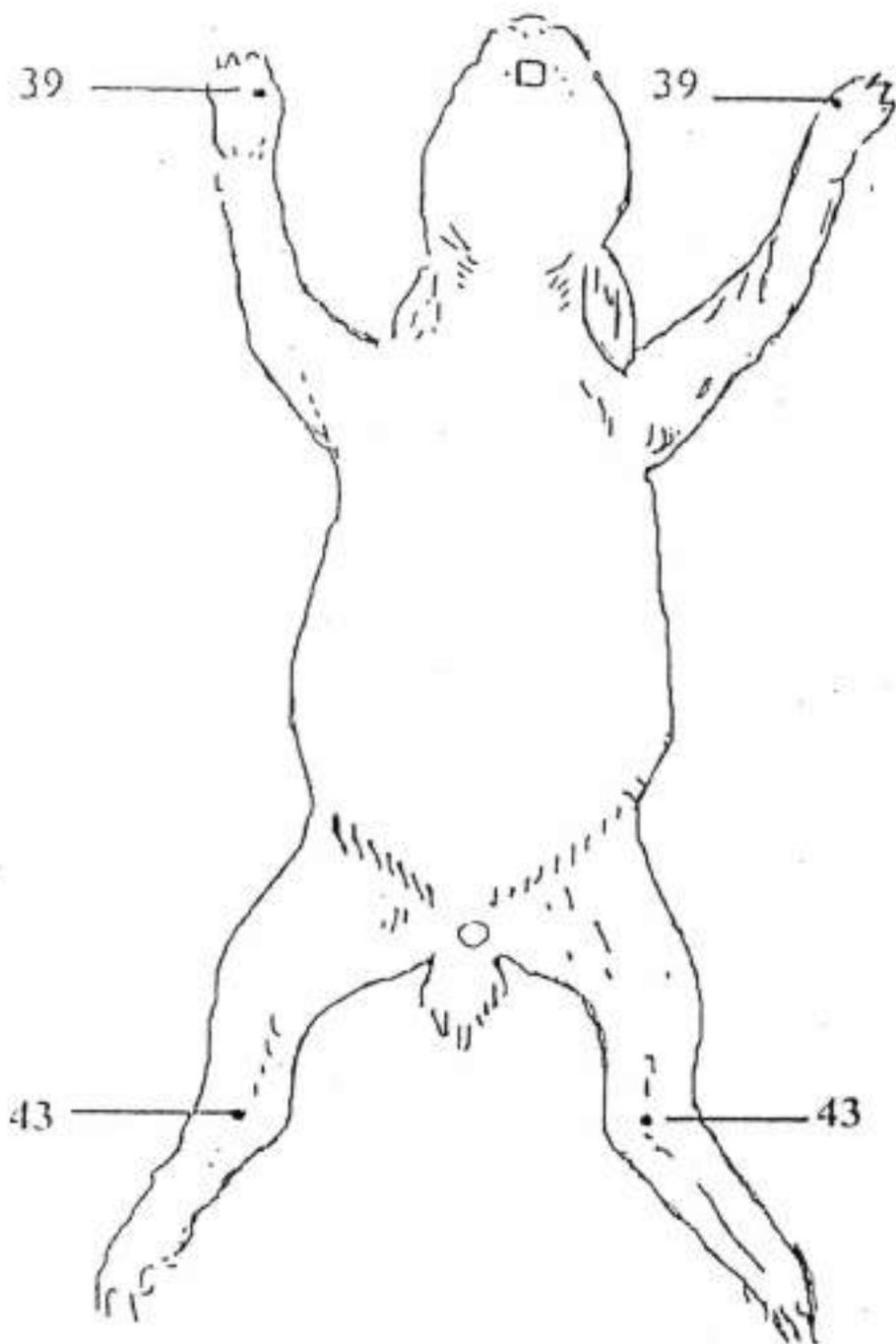
| Rata-rata | Perlakuan | P2 | P1 | P3 | P0 |
|-----------|-----------|----|----|----|----|
| -204.2860 | P2        |    |    |    |    |
| -62.8400  | P1        | *  |    |    |    |
| -46.4520  | P3        | *  |    |    |    |
| 56.7740   | P0        | *  | *  | *  |    |

(\*) Berbeda nyata ( $p < 0.05$ )

## Lampiran 2 : Titik Akupunktur Kelinci Untuk Penurunan Nilai Ambang Rasa Panas

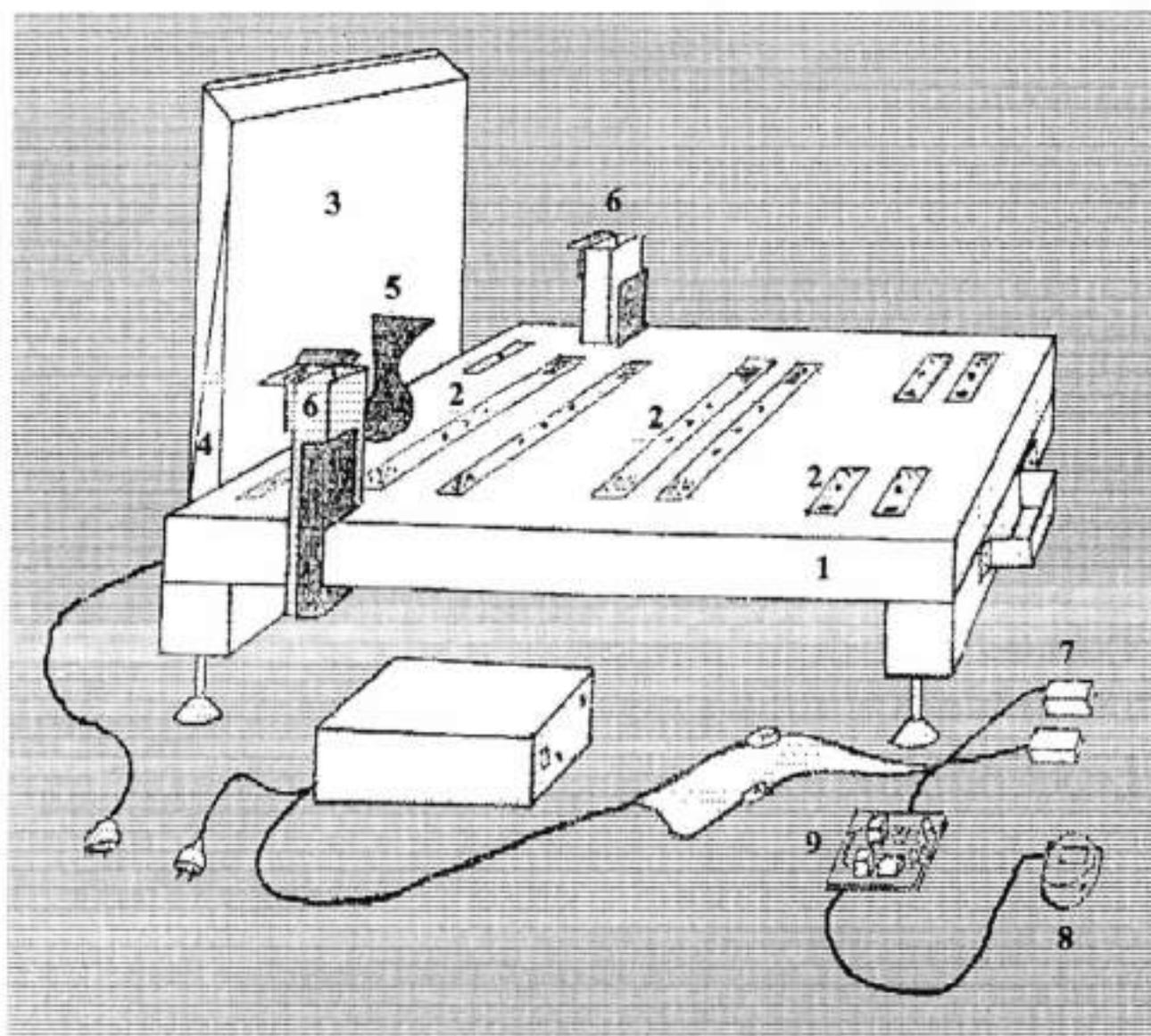
| NO. | NAMA TITIK  |                  | LOKASI  | ANATOMI   | CARA PENUSUKAN                                       | INDIKASI   |
|-----|-------------|------------------|---|---|--|--|
| 39. | He Ku       | Kumpulan Lebah   | Pada kaki depan metacarpal I & II dekat dengan ditepi pertengahan metacarpal II kiri kanan 1 titik                                    | Tusuk kedalam pertengahan metacarpal 1 & 2 cm flex, dg. profundus & sublimis di antara kedua tendinae | tusuk miring, medio dorsal 0,2 - 0,5 cm dapat dimoxa | Anaesthesi untuk menurunkan panas dg. mengeluarkan keringat. lumpuh kaki depan |
| 43. | Hou San Lie | 3 LI di Belakang | Pd tepi latero-caudal articulation genu antara tl. tibia & fibula<br>1,2 cm tepi depan sejarak 1 cm dari tl. tibia kiri kanan 1 titik | Diantara tl. tibia & Fibula tusuk kedalam m. tibialis cranialis                                       | tusuk tegak lurus 2,5 cm dapat dimoxa                | Hemiplegia kaki belakang lemah pd limpa & lambung mencret                      |

## Lampiran 3



Gambar 4. Skema Lokasi Titik Akupunktur Kelinci Uji (Dorsal)

Lampiran 4 : Alat Pengukur Nilai Ambang Rasa Panas Pada Kelinci .



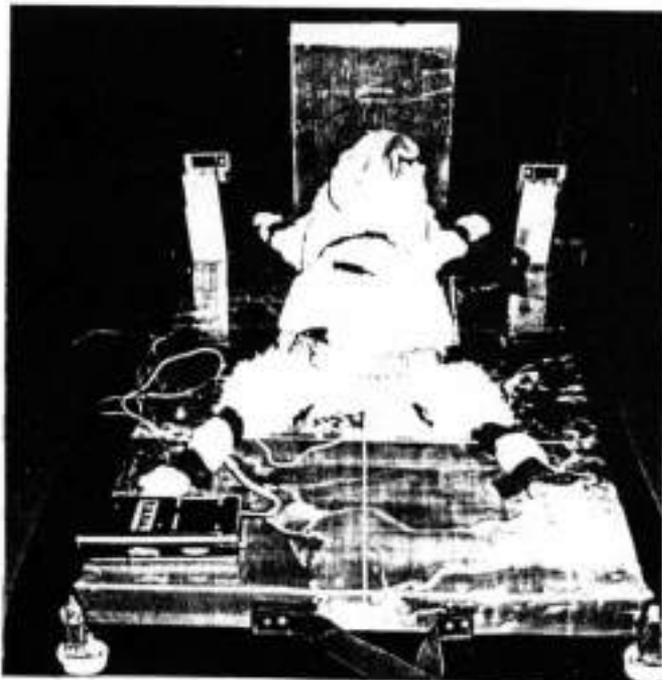
Keterangan dan Penjelasan Alat :

1. Papan fiksasi, terbuat dari kayu lunak.
2. Sabuk fiksasi, terbuat dari tenunan kain dan pengait.
3. Baja pemanas, terbuat dari *stainless steel*.
4. Elemen pemanas, terbuat dari setrika yang dihubungkan dengan thermostat sehingga didapatkan suhu stabil  $60^{\circ}\text{C}$ .
5. Plastik pembatas, terbuat dari potongan paralon untuk mengarahkan kepala kelinci sehingga moncong terletak pada baja pemanas.
6. Menara sensor, terbuat dari lempeng aluminium sehingga dapat diatur menurut besar kecilnya kelinci yang digunakan.
7. Sensor inframerah, untuk mengontrol gerak kelinci yang sudah tidak tahan terhadap rasa panas sehingga kelinci akan menghindar dari baja pemanas. Alat ini dihubungkan *stopwach* yang secara otomatis akan berhenti saat kepala kelinci memotong sensor.
8. *Stopwach digital*, untuk menghitung waktu secara otomatis.
9. Rangkaian transmisi, terdiri dari dua buah relay, satu buah resistor, tiga buah lampu LED, dan dua buah diode yang dirangkai sedemikian rupa sehingga berfungsi sebagai transmitter dari sensor inframerah ke *stopwach*.
10. Rangkaian pemutus tegangan, untuk memutuskan tegangan yang masuk dari tegangan lain yang melewati rangkaian ini, sehingga terhindar dari perolehan data yang rancu pada *stopwach*.

## Lampiran 5 :



Gambar. Kandang hewan coba di L P 3 A Surabaya.



Gambar. Hewan coba difiksasi