

KK
KKA
TKD37/11
Rah
P

TESIS

PERBANDINGAN JUMLAH EOSINOFIL DARAH TIKUS PUTIH (*Ratus norvegicus galur Wistar*) AKIBAT INJEKSI EKSTRAK UDANG INTRADERMAL DAN LATIHAN RENANG INTENSITAS BERAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Indri Ngesti Rahayu
NIM. 090515536 / M

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008

TESIS

PERBANDINGAN JUMLAH EOSINOFIL DARAH TIKUS PUTIH (*Ratus norvegicus galur Wistar*) AKIBAT INJEKSI EKSTRAK UDANG INTRADERMAL DAN LATIHAN RENANG INTENSITAS BERAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

**Indri Ngesti Rahayu
NIM. 090515536 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

Rayhan Camp
ii

PERBANDINGAN JUMLAH EOSINOFIL DARAH TIKUS PUTIH (*Ratus norvegicus galur Wistar*) AKIBAT INJEKSI EKSTRAK UDANG INTRADERMAL DAN LATIHAN RENANG INTENSITAS BERAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

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

Oleh

**Indri Ngesti Rahayu
NIM. 090515536 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

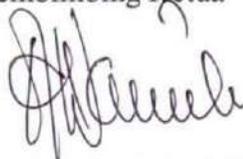
Rayhan Comp

iii

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL : 4 FEBRUARI 2008

Oleh

Pembimbing Ketua



Tjitra Wardani, dr., MS
NIP. 130 676 013

Pembimbing



Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIF
NIP. 130 358 675

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof Retno Handajani, dr., MS, PhD
NIP. 130 541 984

Diuji pada

Tanggal : 15 Februari 2008

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Harlina Soetjipto, dr, MS

- Anggota:
1. Tjitra Wardani, dr., MS
 2. Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIF
 3. Choesnan Effendi, dr, AIF
 4. Prof. Dr. Sunarko Setyawan, dr, MS
 5. Muhammad Cholil Munif, dr, AIF

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat-Nya, sehingga penelitian ini dapat selesai pada waktunya.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Tjitra Wardani, dr, MS selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran selalu memberikan bimbingan, kritik, saran serta dorongan dan motivasi sejak penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih yang tak ternilai dan penghargaan serta penghormatan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIF selaku pembimbing yang selalu bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan sejak penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Dalam kesempatan ini pula, perkenankan saya mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah bersedia membantu saya yakni :

1. Universitas Hang Tuah Surabaya, yang telah memberikan beasiswa selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
2. Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Fasichul Lisan, Apt. yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr Hj Sri Hajati SH MS, dan mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Surabaya, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K), yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K), dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr HMS Wijadi, dr, DTMH, yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya, Sartono, dr, SpPD, yang telah memberikan izin dan dorongan untuk mengikuti pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
2. Prof Retno Handajani, dr, MS, PhD selaku Plh. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang banyak membantu dalam perijinan.
3. Choesnan Effendi, dr, AIF selaku ketua Minat Ilmu Faal Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang telah banyak memberikan bantuan dan bimbingan selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
4. Ketua Departemen Ilmu Faal Universitas Airlangga Surabaya, Harlina Soetjipto, dr, MS, dan mantan Ketua Departemen Ilmu Faal Universitas Airlangga Surabaya, Prof. Dr Harjanto JM, dr, AIF, yang telah banyak memberikan bantuan dan bimbingan selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

5. Prof. Dr Harjanto JM, dr, AIF, Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister (TKPSM) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah banyak membantu dalam perijinan.
6. M. Cholil Munif, dr, AIF, staf pengajar bagian Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu dalam pengolahan data hasil penelitian dan memberikan bimbingan serta masukan selama penyusunan proposal dan tesis.
7. Panitia penguji proposal dan tesis : Tjitra Wardani, dr, MS; Prof. Dr Harjanto JM, dr, AIF; Choesnan Effendi, dr, AIF; Prof Dr Soenarko Setyawan, dr, MS; Harlina Soetjipto, dr, MS dan Muhammad Cholil Munif, dr, AIF yang telah memberikan masukan dan saran untuk perbaikan tesis saya.
8. Seluruh Dosen pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar minat Ilmu Faal yang banyak membantu selama menempuh pendidikan.
9. Seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Unair yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan.
10. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan.
11. Orang tua dan mertua tercinta, suami tercinta Roesdhy Ariyanto dan anak-anakku tersayang M. Nauval Ramadhan, Salma Dwi Aryani dan calon adiknya atas segala kesempatan, pengertian, doa dan dukungan selama menjalani pendidikan di Program Pascasarjana Unair.

12. Semua teman-temanku, bu Purwo, bu Hawin, pak Joni, pak Bambang, bu Dita, pak Ugik, pak Darwis dan teman-teman IKD yang lain, yang banyak membantu selama mengikuti program pendidikan di Program Pascasarjana Unair.
 13. Kepada bapak Herry Soemantoro dan bapak Choirul yang telah banyak membantu dalam penyediaan dan pemeliharaan hewan coba dan pengambilan darah.
 14. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian penelitian dan penyusunan tesis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.
- Dengan segenap kerendahan hari penulisan mohon maaf atas segala kekurangan.

Surabaya, 4 Februari 2008

Penulis

RINGKASAN

Perbandingan Jumlah Eosinofil Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* galur *Wistar*) Akibat Injeksi Alergen Intradermal Dan Latihan Renang Intensitas Berat

Indri Ngesti Rahayu

Di zaman yang modern ini, banyak didapatkan stresor yang berat dan kerentanan individu terhadap stres terlihat meningkat. Pada kondisi stres seringkali ditemukan adanya peningkatan insiden alergi pada individu, bahkan pada individu yang tidak memiliki riwayat alergi sekalipun.

Saat stres berat maka akan terjadi pengaktifan dua sistem neuroendokrin tubuh yaitu sistem *sympathetic adreno-medullary* (SAM) yang akan menghasilkan epinefrin (E), dopamine serta norepinefrin (NE) dan sistem *hypothalamus-pituitary-adrenal* (HPA) yang akan menghasilkan *adreno cortico tropic hormone* (ACTH) dan kortisol. Bila sistem yang aktif adalah SAM maka sekresi E akan meningkat dengan cepat dan peningkatan E tersebut yang dapat meningkatkan jumlah leukosit dalam sirkulasi termasuk eosinofil. Salah satu sebab diaktifkannya sistem SAM ini adalah latihan fisik dengan intensitas yang berat. Telah diketahui bahwa beberapa episode dari latihan fisik dapat mempengaruhi tipe dan jumlah sel darah putih yang beredar di sirkulasi termasuk eosinofil.

Tujuan penelitian ini adalah membandingkan jumlah eosinofil darah akibat pemberian alergen intradermal, dalam hal ini digunakan ekstrak udang dan latihan renang intensitas berat.

Rancangan penelitian adalah *Posttest Only Control Group Design*. Hewan coba *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan berusia 3-3,5 bulan dibagi dalam 3 kelompok, tiap kelompok 7 ekor. Data diambil 100 menit setelah injeksi allergen maupun cocofiltra. Kelompok perlakuan dilakukan satu kali injeksi intradermal ekstrak udang. Sedang kelompok kontrol perlakuan diberikan satu kali injeksi intradermal larutan *cocofiltra*. Perlakuan latihan renang intensitas berat dilakukan satu kali. Latihan dilakukan dengan merenangkan tikus dalam bak berisi air setinggi 50 cm dengan menggunakan beban seberat 9% dari berat badan hewan coba (tikus) yang diikatkan dari ujung ekor selama lebih kurang 80% kemampuan renang maksimal. Volume injeksi ekstrak udang maupun cocofiltra adalah 0,01 ml. Unit analisis adalah darah yang diambil langsung dari jantung kemudian dilakukan pengukuran jumlah eosinofil ($/\mu\text{l}$).

Hasil jumlah eosinofil yang diperoleh pada kelompok kontrol $143 \pm 53 /\mu\text{l}$. Kelompok injeksi alergen intradermal $143 \pm 79 /\mu\text{l}$. Kelompok latihan renang intensitas berat $457 \pm 299 /\mu\text{l}$.

Hasil uji Anova antara kelompok didapatkan beda signifikan ($p=0,001$). Hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau LSD dapat menunjukkan bahwa efek latihan renang intensitas berat meningkatkan jumlah eosinofil ($p=0,001$) sedangkan efek ekstrak udang tidak meningkatkan jumlah eosinofil ($p=1,000$). Dengan

demikian pemberian latihan renang intensitas berat meningkatkan jumlah eosinofil sedang pemberian ekstrak udang intradermal tidak meningkatkan jumlah eosinofil.

SUMMARY

The Comparison of Eosinophil Count in Male White Rats (*Rattus Norvegicus strain Wistar*) Exposed To Administration Shrimp's Extract Intradermal Injection and High Intensity Swimming Exercise

Indri Ngesti Rahayu

In the modern era, there is a lot of heavy stressor and the individual respons to stress is enhanced. Stress condition often increase incidence of allergy, even in person who did not have an allergic record.

When a person is exposed by a heavy stress, there are two neuroendocrine system activated, the sympathetic adreno-medullary system (SAM) which produces epinephrine (E), dopamine and norepinephrine (NE), and the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) which yielding adrenocorticotropic hormone (ACTH) and cortisol. When the SAM is activated, it increased epinephrine secretion and increased leucocyte count including eosinophil. The cause of SAM activation is high intensity exercise. It is known that some episode of exercise can influence circulating leucocyte count and type, including eosinophil.

The objective of this study was to compare eosinophil count by administration allergen intradermal injection, in this case was shrimp's extract, and high intensity swimming exercise.

This study used the Posttest Only Control Group Design. The experimental animals were male Wistar strain rats aged 3 - 3.5 months, divided into three groups, each comprised seven rats. One treatment group received shrimp's extract intradermal injection while control group received cocofiltra solution intradermal injection. High intensity swimming exercise was performed once in the bucket filled with water of 50 cm high, and load of 9% of body weight that was tied on rat's tail for approximately 80% maximal swimming capacity. The injection volume either shrimp's extract and cocofiltra was 0.01 ml. The analysis unit was blood taken directly from heart after the injection either shrimp's extract and cocofiltra, and subjected to eosinophil count (/ μ l) .

Results obtained in control was 143 ± 53 / μ l. Group with shrimp's extract intradermal injection had 143 ± 79 / μ l. Group with high intensity swimming exercise had 457 ± 299 / μ l.

The results of Anova test show significant difference ($p=0.001$). The results of LSD test can show that high intensity swimming exercise significantly increased eosinophil count ($p=0.001$) while shrimp's extract intradermal injection does not significantly increased eosinophil count ($p=1.000$). In conclusion, high intensity swimming exercise was increase eosinophil count, while shrimp's extract intradermal injection was not increase eosinophil count.

ABSTRACT**The Comparison of Eosinophil Count in Male White Rats (*Rattus Norvegicus strain Wistar*) Exposed To Administration Shrimp's Extract Intradermal Injection and High Intensity Swimming Exercise****Indri Ngesti Rahayu**

This study was aimed to compare the effect of shrimp's extract intradermal injection and high intensity swimming exercise on rat's eosinophil count. Twenty rats are grouped into control group and treatment groups. Treatment group received shrimp's extract intradermal injection while control group received cocofiltra solution intradermal injection. High intensity swimming exercise performed once in the bucket filled with water of 50 cm high, and load of 9% of body weight that was tied on rat's tail for approximately 80% maximal swimming capacity. The injection volume either shrimp's extract and cocofiltra was 0.01 ml. The analysis unit was blood taken directly from heart 100 minutes after injection either shrimp's extract and cocofiltra, and subjected to eosinophil count ($/\mu\text{l}$). Results obtained in control was $143 \pm 53 /\mu\text{l}$. Group with shrimp's extract intradermal injection had $143 \pm 79 /\mu\text{l}$. Group with high intensity swimming exercise had $457 \pm 299 /\mu\text{l}$. The results of Anova test show significant difference ($p=0.001$). The results of LSD test show that high intensity swimming exercise significantly increased eosinophil count ($p=0.001$) while shrimp's extract intradermal injection did not significantly increased eosinophil count ($p=1.000$). In conclusion, high intensity swimming exercise increased eosinophil count, while shrimp's extract intradermal injection did not.

Keywords: Shrimp's extract, High intensity swimming exercise, Eosinophil count



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|----------------------------------|----------|
| Sampul Depan..... | i |
| Sampul Dalam..... | ii |
| Prasyarat Gelar..... | iii |
| Persetujuan..... | iv |
| Penetapan Panitia Penguji..... | v |
| Ucapan Terima Kasih..... | vi |
| Ringkasan..... | x |
| Summary..... | xiii |
| <i>Abstract</i> | xv |
| DAFTAR ISI..... | xvi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xxi |
| DAFTAR TABEL..... | xxiii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xxiv |
| DAFTAR SINGKATAN | xxv |
| B A B 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.3.1 Tujuan umum..... | 5 |
| 1.3.2 Tujuan khusus..... | 5 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 5 |

| | | |
|----------------|--|----------|
| B A B 2 | TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1 | Latihan Fisik..... | 6 |
| 2.1.1 | Definisi..... | 6 |
| 2.1.2 | Dosis latihan..... | 7 |
| 2.1.3 | Respon dan adaptasi tubuh..... | 8 |
| 2.1.4 | Dampak latihan fisik..... | 9 |
| 2.1.5 | Adaptasi hormonal pada latihan fisik..... | 10 |
| 2.1.6 | Latihan renang..... | 10 |
| 2.2 | Daya Tahan Tubuh..... | 11 |
| 2.2.1 | Komponen sel pembentuk daya tahan tubuh..... | 12 |
| 2.3 | Leukosit..... | 13 |
| 2.3.1 | Sifat umum leukosit..... | 13 |
| 2.3.2 | Macam-macam leukosit..... | 13 |
| 2.3.3 | Konsentrasi bermacam-macam leukosit..... | 14 |
| 2.3.4 | Pembentukan leukosit..... | 15 |
| 2.3.5 | Masa hidup leukosit..... | 17 |
| 2.3.6 | Mobilisasi leukosit..... | 18 |
| 2.3.7 | Eosinofil | 22 |
| 2.4 | Imunoglobulin..... | 26 |
| 2.5 | Sitokin..... | 28 |
| 2.6 | Stres dan Daya Tahan Tubuh..... | 29 |
| 2.6.1 | Latihan fisik dan daya tahan tubuh..... | 30 |
| 2.7 | Alergi..... | 32 |

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 2.7.1 | Prevalensi..... | 32 |
| 2.7.2 | Alergen..... | 32 |
| 2.7.3 | Mekanisme alergi..... | 33 |
| 2.7.4 | Reaksi hipersensitivitas tipe cepat (tipe I)..... | 34 |
| 2.7.5 | Reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV)..... | 39 |
| 2.7.6 | Pemeriksaan alergi..... | 40 |
| 2.8 | Hubungan Latihan (<i>Exercise</i>) Dengan Alergi..... | 42 |
| 2.8.1 | Prevalensi penyakit alergi akibat <i>exercise</i> | 44 |
| 2.8.2 | Patofisiologi <i>exercise induced asthma</i> (EIA) dan <i>exercise induced bronchoconstriction</i> (EIB)..... | 44 |
| B A B 3 | KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN... | 46 |
| 3.1 | Kerangka Konseptual Penelitian..... | 46 |
| 3.2 | Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian..... | 47 |
| 3.3 | Hipotesis Penelitian..... | 48 |
| B A B 4 | METODE PENELITIAN..... | 49 |
| 4.1 | Rancangan Penelitian..... | 49 |
| 4.2 | Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel..... | 50 |
| 4.2.1 | Sampel..... | 50 |
| 4.2.2 | Teknik pengambilan sampel..... | 51 |
| 4.2.3 | Besar sampel..... | 51 |
| 4.3 | Variabel Penelitian..... | 51 |
| 4.3.1 | Variabel Bebas..... | 51 |
| 4.3.2 | Variabel Tergantung..... | 51 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.3.3 | Variabel moderator..... | 51 |
| 4.3.4 | Variabel kendali..... | 52 |
| 4.4 | Definisi Operasional Variabel..... | 52 |
| 4.4.1 | Latihan renang intensitas berat..... | 52 |
| 4.4.2 | Pemberian alergen..... | 52 |
| 4.4.3 | Pemberian placebo..... | 53 |
| 4.4.4 | Eosinofil (jumlah eosinofil darah) | 53 |
| 4.4.5 | Kesehatan fisik hewan coba..... | 54 |
| 4.4.6 | Pemeliharaan dan perawatan hewan coba..... | 54 |
| 4.5 | Bahan dan Alat Penelitian..... | 54 |
| 4.5.1 | Bahan Penelitian..... | 54 |
| 4.5.2 | Alat Penelitian..... | 56 |
| 4.6 | Tempat dan Waktu Penelitian..... | 56 |
| 4.6.1 | Tempat Penelitian..... | 56 |
| 4.6.2 | Waktu Penelitian..... | 56 |
| 4.6.3 | Tempat Pemeriksaan Laboratorium..... | 56 |
| 4.7 | Pelaksanaan Penelitian..... | 57 |
| 4.7.1 | Aklimatisasi..... | 57 |
| 4.7.2 | Pembagian kelompok hewan coba..... | 57 |
| 4.7.3 | Penimbangan berat badan..... | 57 |
| 4.7.4 | Pengambilan data kontrol perlakuan..... | 57 |
| 4.7.5 | Pelaksanaan perlakuan..... | 58 |
| 4.7.6 | Persyaratan etik..... | 59 |

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 4.7.7 | Pembiusan..... | 59 |
| 4.7.8 | Prosedur pengambilan darah..... | 59 |
| 4.7.9 | Pemeriksaan jumlah eosinofil..... | 60 |
| 4.8 | Analisis Data..... | 60 |
| B A B 5 | ANALISIS HASIL PENELITIAN..... | 62 |
| 5.1 | Data Penelitian..... | 62 |
| 5.2 | Analisis dan Hasil Penelitian..... | 62 |
| 5.2.1 | Hasil analisis deskriptif..... | 62 |
| 5.2.2 | Hasil uji normalitas distribusi..... | 63 |
| 5.2.3 | Hasil uji homogenitas..... | 64 |
| 5.2.4 | Hasil uji ANOVA..... | 65 |
| 5.2.5 | Hasil uji ANAKOVA..... | 66 |
| 5.3 | Efek injeksi alergen intradermal terhadap jumlah eosinofil..... | 66 |
| 5.4 | Efek latihan renang intensitas berat (olahraga) terhadap jumlah eosinofil..... | 67 |
| B A B 6 | PEMBAHASAN..... | 68 |
| B A B 7 | PENUTUP..... | 76 |
| 7.1 | Kesimpulan..... | 76 |
| 7.2 | Saran..... | 76 |
| | Daftar Pustaka..... | 77 |
| | Lampiran..... | 85 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|-----|
| Gambar 2.1 Sindroma Adaptasi Umum..... | 9 |
| Gambar 2.2 Berbagai macam tipe leukosit..... | 14 |
| Gambar 2.3 Pembentukan sel darah putih..... | 16 |
| Gambar 2.4 Resirkulasi limfosit..... | 19 |
| Gambar 2.5 Tahap-tahap migrasi leukosit..... | 21 |
| Gambar 2.6 Eosinofil matur..... | 25 |
| Gambar 2.7 Berbagai macam reaksi hipersensitivitas..... | 34 |
| Gambar 2.8 Mekanisme terjadinya alergi tipe cepat..... | 35 |
| Gambar 2.9 Tes kulit dengan injeksi intradermal pada reaksi hipersensitivitas tipe cepat | 36 |
| Gambar 2.10 Beberapa tahapan respon alergi..... | 37 |
| Gambar 2.11 Beberapa alergen yang umum..... | 38 |
| Gambar 2.12 Tes kulit untuk alergi..... | 41 |
| Gambar 5.1 Diagram batang rerata jumlah eosinofil menurut kelompok perlakuan.... | 63 |
| Gambar 6.1 Peran kortikosteroid sebagai antiinflamasi..... | 75 |
| Lampiran 11 Gambar Penelitian | 98 |
| Gambar 1 Kandang tempat pemeliharaan tikus | 98 |
| Gambar 2 Penimbangan berat badan tikus | 98 |
| Gambar 3 Bak tempat merenangkan tikus | 99 |
| Gambar 4 Perlakuan renang pada tikus | 99 |
| Gambar 5 Perlakuan injeksi intradermal alergen maupun plasebo..... | 100 |

| | |
|--|-----|
| Gambar 6 Pembiusan tikus..... | 100 |
| Gambar 7 Pengambilan darah intrakardial..... | 101 |
| Gambar 8 Tabung tempat sampel darah tikus..... | 101 |
| Gambar 9 Alat-alat dan bahan penelitian..... | 102 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1 Berbagai jenis lekosit..... | 15 |
| Tabel 2.2 Beberapa Tempat Produksi, Target dan Efek Interleukin..... | 29 |
| Tabel 2.3 Perbandingan Alergi Tipe Lambat dan Tipe Cepat..... | 40 |
| Tabel 2.4 Interpretasi Hasil Tes Kulit Intradermal..... | 42 |
| Tabel 2.5 Penyakit-penyakit Yang Diinduksi Oleh Stres..... | 43 |
| Tabel 5.1 Nilai rerata dan SD variabel tergantung pada tiap kelompok..... | 62 |
| Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Distribusi..... | 64 |
| Tabel 5.3 Rangkuman Anava satu arah untuk variabel berat badan..... | 64 |
| Tabel 5.4 Rangkuman ANOVA univariat..... | 65 |
| Tabel 5.5 Hasil uji BNT..... | 65 |
| Tabel 5.6 Hasil uji ANAKOVA univariat..... | 66 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|-----|
| Lampiran 1. Perhitungan Besar Sampel Penelitian..... | 85 |
| Lampiran 2. Pemberian Alergen..... | 86 |
| Lampiran 3 Pemeriksaan Hematologi Rutin dengan Metode Advia 120..... | 88 |
| Lampiran 4 Data Hasil Pengukuran Jumlah Eosinofil..... | 89 |
| Lampiran 5 Hasil Analisis Deskriptif Kelompok..... | 90 |
| Lampiran 6 Hasil uji Normalitas Distribusi..... | 91 |
| Lampiran 7 Hasil Uji Homogenitas Berat Badan Sampel..... | 93 |
| Lampiran 8 Hasil uji ANOVA..... | 94 |
| Lampiran 9 Hasil Penimbangan Berat badan Tikus dan Hasil Uji ANAKOVA..... | 95 |
| Lampiran 10 Alur penelitian..... | 96 |
| Lampiran 11 Jadwal Pelaksanaan..... | 97 |
| Lampiran 12 Gambar Penelitian..... | 98 |
| Lampiran 13 Sertifikat <i>Ethical Clearance</i> | 103 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|---------------------|---|
| SAM | : <i>Sympatho Adreno Medullary</i> |
| E | : <i>Epinefrin</i> |
| NE | : <i>Nor Epinefrin</i> |
| HPA | : <i>Hypothalamo Pituitary Adrenal</i> |
| ACTH | : <i>Adreno Cortico Trophic Hormone</i> |
| EIB | : <i>Exercise Induced Bronchoconstriction</i> |
| EIA | : <i>Exercise Induced Asthma</i> |
| T _H 1 | : <i>T-Helper 1</i> |
| T _H 2 | : <i>T-Helper 2</i> |
| IgE | : <i>Imunoglobulin E</i> |
| IgG | : <i>Imunoglobulin G</i> |
| IgM | : <i>Imunoglobulin M</i> |
| IgD | : <i>Imunoglobulin D</i> |
| IgA | : <i>Imunoglobulin A</i> |
| VO ₂ max | : <i>Volume O₂ maximal</i> |
| GAS | : <i>General Adaptation Syndrome</i> |
| GH | : <i>Growth Hormone</i> |
| NK | : <i>Natural Killer</i> |
| PMN | : <i>Poly Morpho Nuclear</i> |
| GM-CSF | : <i>Granulocyte Monocyte – Colony Stimulating Factor</i> |
| IL-3 | : <i>Interleukin-3</i> |

| | |
|------------------|---|
| IL-5 | : Interleukin-5 |
| LTC ₄ | : <i>Leucotriene C₄</i> |
| TNF- α | : <i>Tumor Necrotizing Factor- α</i> |
| RANTES | : <i>Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted</i> |
| ECF | : <i>Eosinophil Chemotacting Factor</i> |
| EDTA | : <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i> |
| ANOVA | : <i>Analysis Of Varians</i> |
| BNT | : <i>Beda Nyata Terkecil</i> |
| ANAKOVA | : <i>Analysis Of Kovarians</i> |

BAB 1
PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di zaman yang modern ini, banyak didapatkan suatu stresor yang berat dan kerentanan individu terhadap stres terlihat meningkat. Pada kondisi stres seringkali ditemukan adanya peningkatan insiden alergi pada individu, bahkan pada individu tidak memiliki riwayat alergi sekalipun. Parsons and Mastronade (2005) mengatakan bahwa *exercise-induced bronchoconstriction* (EIB) dialami oleh 10% subyek yang tidak memiliki riwayat alergi maupun asma. Prevalensi terjadinya *bronchospasm* yang berhubungan dengan exercise pada atlet sekitar 11 sampai 50% dan dapat meningkat sampai 90% pada atlet yang menderita asma. Dikatakan pula bahwa pada aktivitas fisik yang mengakibatkan stres akan terjadi peningkatan eosinofil dan kemudian menurun dengan pelan dikarenakan pengaruh dari hormon korteks adrenal (Shephard, 1982; Parsons and Mastronade, 2005).

Saat stres berat akan terjadi aktivasi dua sistem neuroendokrin tubuh yaitu sistem *sympathetic adreno-medullary* (SAM) yang akan menghasilkan epinefrin (E), dopamine serta norepinefrin (NE) dan sistem *hypothalamus-pituitary-adrenal* (HPA) yang akan menghasilkan *adreno cortico tropic hormone* (ACTH) dan kortisol (Pacak and Palkovitz, 2001). Bila sistem yang aktif adalah SAM maka sekresi E akan meningkat dengan cepat dan peningkatan E tersebut yang dapat meningkatkan jumlah leukosit dalam

sirkulasi termasuk eosinofil. Salah satu sebab diaktifkannya sistem SAM ini adalah latihan fisik dengan intensitas yang berat. Dan telah diketahui bahwa beberapa episode dari latihan fisik dapat mempengaruhi tipe dan jumlah sel darah putih yang beredar di sirkulasi termasuk eosinofil (Nernet *et al*, 2004). Leukositosis yang disebabkan oleh E terjadi dalam dua fase, yaitu (1) Fase cepat, dimana terjadi terutama peningkatan netrofil dan limfosit serta didapatkan pula peningkatan eosinofil dan monosit; dan (2) Fase lambat, saat neutrofilia mendominasi gambaran darah tepi dan didapatkan limfopenia dan eosinopenia (Chatterjea *et al*, 1953). Terdapat beberapa tingkat kenaikan dari eosinofil pada penelitian Chatterjea *et al*. (1953) dan kenaikan maksimal dari eosinofil berkisar antara 9 sampai 120 menit. Pedersen dan Hoffman-Goetz (2000) menyebutkan bahwa latihan merupakan salah satu model dari stres fisik yang representatif. Penelitian Susan *et al*. (2005) menunjukkan bahwa stresor latihan fisik dapat meningkatkan jumlah eosinofil darah yang akan bermigrasi ke jaringan sehingga menimbulkan reaksi alergi. Kenaikan jumlah eosinofil seringkali dihubungkan dengan terjadinya reaksi alergi. Akan tetapi, kenaikan jumlah eosinofil yang signifikan pada latihan fisik masih menjadi perdebatan, dan pada kenyataannya menunjukkan terdapat banyak penelitian yang hasilnya berbeda dan sangat berhubungan dengan pentingnya reaksi alergi (Setyawan, 2005). Latihan renang merupakan salah satu jenis olahraga ketahanan dimana memerlukan peningkatan ventilasi dalam waktu yang cukup lama selama latihan ataupun lomba, sehingga menyebabkan pengeluaran air secara evaporasi menjadi relatif lebih banyak (Parsons and

Mastronarde, 2005). Ventilasi yang tinggi yang terjadi pada saat *exercise* dipikirkan sebagai faktor yang menginduksi respons berantai yang dimulai dengan kehilangan air dari cairan permukaan saluran nafas dan perubahan konsekuensial pada potensial osmotik dari sel-sel di saluran nafas. Pada saat *exercise* berhenti, kehilangan air dari saluran nafas berhenti dan kembali normal, dan terdapat pemulihan dari potensial osmotik pada sel-sel di saluran nafas. Dan keadaan tersebut berkaitan dengan pelepasan mediator-mediator inflamasi dari sel yang terlibat, yang akan memicu konstriksi dari otot-otot saluran nafas, sehingga menyebabkan *bronchoconstriction*. Helenius dan Haahtela menyatakan bahwa olahraga renang adalah salah satu dari dua olahraga yang mempunyai angka prevalensi tertinggi untuk terjadinya asma (Whyte, 2006).

Latihan fisik dapat meningkatkan resistensi terhadap infeksi saluran nafas, dan meningkatkan insiden kekambuhan penyakit alergi (Pedersen and Hoffman-Goetz, 2000). Pada manusia yang tidak alergi, alergen menstimulasi salah satu tipe dari limfosit T *helper*, sel T_H1 , untuk mensekresi interferon- γ dan interleukin-2. Pada manusia yang alergi, sel dendritik menstimulasi tipe yang lain dari limfosit T *helper*, sel T_H2 , untuk mensekresi limfokin yang lain, termasuk interleukin-4 dan interleukin-13, yang selanjutnya akan menstimulasi limfosit B dan sel plasma untuk mensekresi antibodi dari subklas IgE selain antibodi IgG yang normal. IgE terikat pada sel mast dan basofil, yang mempunyai reseptor membran untuk antibodi ini. Saat terjadi paparan lagi dengan alergen yang sama, maka alergen akan terikat pada antibodi yang melekat pada sel mast dan basofil.

Stimulasi dari sel ini akan mensekresi beberapa substansi kimia termasuk salah satunya kemoatraktan yang menarik eosinofil. Suatu penelitian menunjukkan bahwa stresor latihan fisik dapat meningkatkan jumlah eosinofil, yang mengakibatkan efek merugikan bagi tubuh (Setyawan, 2005). Peningkatan eosinofil akan menyebabkan migrasi dan peningkatan akumulasi eosinofil di jaringan yang dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya reaksi alergi (Susan *et al*, 2005).

Beberapa uraian diatas dapat digunakan untuk membandingkan gambaran jumlah eosinofil darah karena pengaruh dari latihan fisik intensitas berat dan adanya paparan alergen, dalam hal ini yang dipakai adalah ekstrak udang. Dilakukan penelitian laboratoris dengan sampel tikus putih (*Rattus norvegicus* galur *Wistar*) yang diberikan latihan renang dengan intensitas berat dan injeksi alergen intradermal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah penelitian adalah :

1. Apakah latihan renang intensitas berat meningkatkan jumlah eosinofil darah tikus putih?
2. Apakah injeksi ekstrak udang intradermal meningkatkan jumlah eosinofil darah tikus putih?
3. Apakah ada perbedaan peningkatan jumlah eosinofil darah tikus putih akibat latihan renang intensitas berat dan injeksi ekstrak udang intradermal?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa latihan renang intensitas berat dan injeksi alergen intradermal meningkatkan jumlah eosinofil darah.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa latihan renang intensitas berat meningkatkan jumlah eosinofil darah.
2. Membuktikan bahwa injeksi ekstrak udang intradermal meningkatkan jumlah eosinofil darah.
3. Membandingkan peningkatan jumlah eosinofil darah akibat injeksi ekstrak udang intradermal dan latihan renang intensitas berat.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Ilmiah : Mendapatkan bukti bahwa peningkatan jumlah eosinofil darah dapat terjadi pada orang yang mengalami *distress* karena stres fisik dan terpapar ekstrak udang.
2. Aplikasi : Memberikan masukan dalam pencegahan timbulnya alergi pada orang yang mengalami *distress* terutama karena stres fisik, seperti latihan intensitas berat.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Latihan Fisik

2.1.1 Definisi

Pengertian latihan fisik (*physical exercise*) dibedakan dengan aktifitas fisik (*physical activity*) dan program latihan fisik (*physical training*). Yang dimaksud dengan aktivitas fisik adalah suatu pergerakan tubuh akibat kontraksi otot rangka (Bouchard, 1993) yang menghasilkan pengeluaran energi (Rika dan Nilawati S, 2004). Latihan fisik adalah aktifitas fisik terencana / terstruktur (Rika dan Nilawati S, 2004) yang berulang dan bertujuan untuk memelihara atau meningkatkan kebugaran fisik (Nieman, 1993). Sedangkan program latihan fisik adalah serangkaian latihan fisik dengan tujuan tertentu (Nieman, 1993).

Dalam kamus Webster's, *exercise* berarti *activity for the purpose of training* atau *systematic practice* atau *a regular series of specific movements designed to* (Setyawan, 1996). Bouchard (1993) telah menyampaikan batasan, bahwa *exercise* adalah aktivitas fisik yang dilakukan (pada waktu luang) untuk suatu tujuan. Sedangkan Nieman (1993) menyampaikan batasan *exercise* sebagai suatu aktivitas fisik yang tersusun dalam suatu program, berupa aktivitas fisik berulang dan bertujuan untuk memelihara atau meningkatkan *physical fitness*. Jadi istilah *exercise* yang diartikan "latihan fisik", terkandung unsur aktivitas fisik, teratur dan sistematis serta bertujuan (Setyawan, 1996).

2.1.2 Dosis latihan

Beban latihan fisik harus terukur (Bouchard, 1993). Ukuran beban latihan fisik tersebut dinamakan dengan “dosis latihan fisik”. Maka dosis latihan ialah beban latihan fisik yang dapat diukur dan mengandung unsur intensitas, frekuensi, durasi dan jenis latihan (Bouchard, 1993; Fox, 1993).

Intensitas latihan merupakan faktor terpenting dalam prinsip pembebanan. Intensitas latihan menunjukkan komponen kualitatif dari kerja yang dilakukan dalam periode waktu tertentu, sehingga semakin banyak kerja yang dilakukan per unit waktu maka semakin tinggi intensitasnya. Maka dari itu intensitas dapat juga diartikan sebagai tingkatan kualitas (ringan, sedang, berat) (Fox, 1993).

Penentuan intensitas latihan dapat dilakukan berdasarkan $VO_2 \max$ (ambilan oksigen maksimal) atau berdasarkan berat badan. Berdasarkan $VO_2 \max$, intensitas latihan fisik dapat dibagi menjadi : 1) latihan fisik intensitas rendah (kurang dari 45% $VO_2 \max$), 2) latihan fisik intensitas sedang (50-70% $VO_2 \max$) dan 3) latihan fisik intensitas tinggi (lebih dari 80% $VO_2 \max$) (Fox, 1993).

Frekuensi yang dimaksud adalah jumlah latihan dalam satu minggu. Frekuensi latihan dapat dilakukan 1 sampai 5 kali per minggu tergantung tujuan yang ingin dicapai (Fox, 1993).

Durasi atau lama latihan dapat diartikan sebagai rentang waktu yang dapat berupa berapa menit atau berapa jam latihan dilakukan setiap kali latihan atau

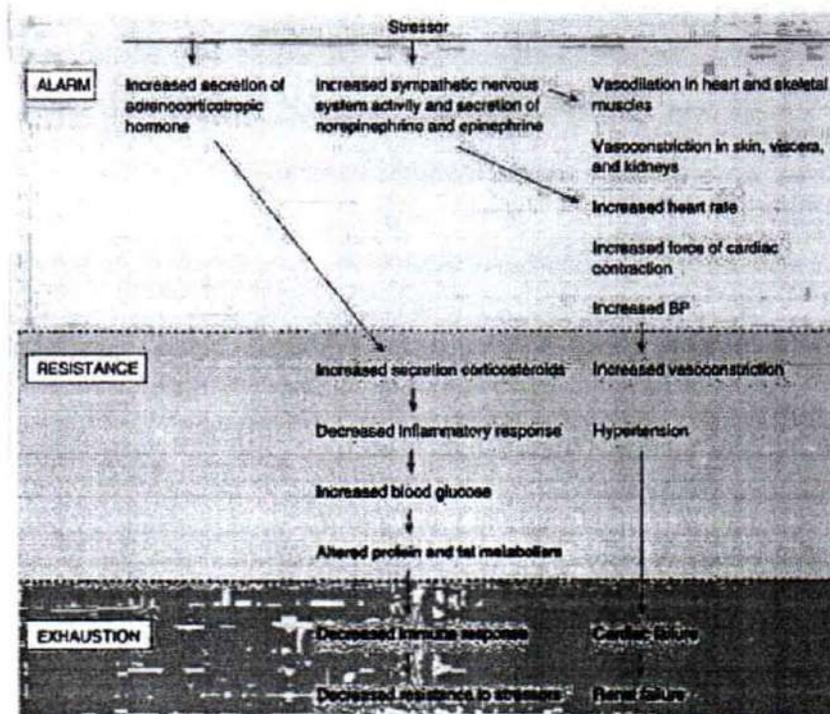
dapat pula diartikan berapa minggu atau berapa bulan suatu program latihan berlangsung (Fox, 1993; Bompa, 1994).

Volume latihan adalah kombinasi dari intensitas dan durasi latihan. Selain itu dapat juga diartikan sebagai gabungan dari jumlah set, pengulangan dan intensitas ($\text{Volume} = \text{set} \times \text{repetisi} \times \text{intensitas}$) (Brown, 1994).

Jenis latihan ialah karakteristik latihan berdasarkan intensitas, frekuensi dan waktu (Fox, 1993).

2.1.3 Respon dan adaptasi tubuh

Latihan fisik tubuh dapat digunakan sebagai bentuk “stres” fisiologik yang dapat menimbulkan perubahan aktivitas fisiologik. Hans Selye, pelopor studi tentang efek stres terhadap tubuh manusia menyatakan bahwa bentuk respon adaptasi tubuh dapat berupa fenomena respon “sindroma adaptasi umum” atau *General Adaptation Syndrome* yang disingkat *GAS*. Respons *GAS* tersebut meliputi tiga tahap, yaitu tahap syok (*the alarm reaction*), tahap adaptasi dan tahap kelelahan atau *overtrained* (Bullock and Henze, 2000; Gunawan dan Sumadiono, 2007). Fenomena respon tubuh pada pemberian dosis latihan fisik dapat digambarkan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Sindroma Adaptasi Umum (Bullock and Henze, 2000)

2.1.4 Dampak latihan fisik

Latihan fisik dapat menimbulkan proses adaptasi tingkat sistem, yaitu sistem saraf, sistem hormon, sistem kardiorespirasi, sistem metabolisme, sistem neuromuskuloskeletal dan sistem ketahanan tubuh (Fox, 1993; Viru, 1995; Widmaier *et al*, 2004).

Peningkatan kemampuan fisiologis pada sistem kardiorespirasi dapat ditunjukkan melalui efisiensi denyut jantung dan *cardiac output*. Adaptasi sistem metabolik dan saraf dapat tercermin pada kualitas neuromuskuloskeletal yang mendukung yaitu kekuatan, kecepatan, ketahanan kontraksi, kelincahan dan koordinasi (Fox, 1993; Bouchard, 1993). Respon sistem saraf-hormon

terhadap sistem pertahanan tubuh akan menimbulkan peningkatan kualitas sistem ketahanan tubuh (Viru, 1995).

2.1.5 Adaptasi hormonal pada latihan fisik

Latihan fisik dapat menimbulkan peningkatan atau penurunan kadar beberapa hormon dalam plasma. Sebagai salah satu kunci respon neurohormonal terhadap latihan fisik adalah peningkatan aktivitas simpatoadrenal, yang mengakibatkan peningkatan sekresi hormone adrenokortikotropin (ACTH), kortisol, renin, angiotensin, aldosteron, hormone pertumbuhan (GH) dan glukagon, tetapi terjadi penurunan sekresi insulin (Viru, 1995).

Mekanisme respons adaptasi hormonal belum banyak diketahui. Adaptasi sistem saraf simpatis pada latihan fisik dapat ditunjukkan pada sekresi norepinefrin dalam plasma darah. (Viru, 1995).

2.1.6 Latihan renang

Latihan renang merupakan salah satu jenis olahraga ketahanan dimana memerlukan peningkatan ventilasi dalam waktu yang cukup lama selama latihan ataupun lomba, sehingga menyebabkan pengeluaran air secara evaporasi menjadi relatif lebih banyak (Parsons and Mastronarde, 2005).

Latihan renang pada tikus banyak dipakai pada penelitian tentang pengaruh fisiologis latihan olahraga. Keuntungan dari penggunaan latihan renang pada tikus adalah tatalaksananya yang mudah dan biaya yang murah sedang kelemahannya adalah standarisasi intensitas latihan yang lebih sukar dilakukan. Pada umumnya standarisasi beban latihan renang pada tikus

dinyatakan dengan berat relatif terhadap berat badan dari beban latihan yang dipasang pada ekor (Harjanto dan Santoso, 2001).

2.2. Daya Tahan Tubuh

Imunologi merupakan ilmu yang mempelajari ketahanan tubuh (*immunity*). Ilmu tersebut berawal dari studi penyakit infeksi dan respons tubuh (Stites *et al*, 1997). Daya tahan tubuh (imunologik) merupakan aspek tubuh yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh, homeostasis dan perondaan (*immune surveillance*) (Bellanti, 1985). Daya tahan tubuh tersebut dapat digunakan untuk melindungi terjadinya infeksi oleh mikroorganisme seperti virus, jamur, bakteri dan parasit. Sedangkan bagian mekanisme yang khusus mengatasi pertumbuhan sel kanker, sel tubuh yang rusak dan sel tubuh yang sudah tua (eritrosit) dikenal sebagai *immune surveillance* (Stites *et al*, 1997; Widmaier *et al*, 2004). Selain itu daya tahan tubuh juga merupakan bagian dari mekanisme homeostasis tubuh melalui keterkaitan antara sitokin dan neurohormonal (Bellanti, 1985; Viru, 1995).

Daya tahan tubuh dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu nonspesifik (*innate immunity*) dan spesifik (*adaptive immunity*), akan tetapi kedua mekanisme respons tersebut sering berinteraksi bila terjadi pemaparan imunogen (Roitt, 1995; Stites *et al*, 1997). Daya tahan tubuh nonspesifik tidak mempunyai mekanisme reaktif yang khusus terhadap benda asing dan tidak mempunyai *immunological memory*. Sedangkan daya tahan tubuh spesifik merupakan mekanisme reaktif yang kerjanya tergantung dari proses pengenalan

benda asing sebelumnya yang harus dieliminasi atau suatu imunogen (Stites *et al*, 1997; Widmaier *et al*, 2004).

Daya tahan tubuh spesifik tersebut meliputi dua tahap, yaitu respon primer dan respon sekunder. Respon primer bertujuan utama untuk menimbulkan mekanisme komponen daya tahan tubuh yang bersifat *immunological memory* yang spesifik. Respon sekunder merupakan bentuk reaksi daya tahan tubuh yang lebih hebat untuk mengeliminasi imunogen yang telah dikenalkan pada saat respon primer (Stites *et al*, 1997).

2.2.1 Komponen sel pembentuk daya tahan tubuh

Sel-sel darah yang terlibat dalam respon imun diturunkan dari *pluripoten haematopoetik stem cell* (Matter, 2003; Kuby, 2003). *Stem cell* tersebut kemudian berdiferensiasi menjadi dua jalur yang berlainan, yaitu jalur mieloid dan jalur limfoid. Jalur mieloid terdiri dari granulosit polimorfonuklear (neutrofil, basofil, sel mast dan eosinofil), monosit, makrofag dan megakariosit/platelet. Sedangkan jalur limfoid terdiri dari limfosit T, limfosit B dan sel NK (Roitt, 1995). Limfosit, neutrofil, eosinofil, basofil dan monosit merupakan unit yang aktif pada sistem imunitas sehingga diberi nama sel imunokompeten. Sel imunokompeten tersebut dapat dipergunakan sebagai indikator kualitas daya tahan tubuh. Indikator daya tahan tubuh yang *innate* akan diwakili oleh basofil, eosinofil, neutrofil dan monosit sedangkan indikator daya tahan tubuh yang *adaptive* dapat ditunjukkan dengan limfosit (Roitt, 1995; Kuby, 2003). Kebanyakan dari sel-sel tersebut dalam aliran darah bersifat non



fungsional dan bila diperlukan akan secara khusus diangkut menuju jaringan yang mengalami peradangan (Ganong, 2005).

Pengaruh fisiologis (misalnya *exercise*, stres), imunologis (adanya imunogen) dan patologis dapat mengakibatkan perubahan proporsi sel imunokompeten di dalam darah (Hay and Andrade, 1998).

2.3 Leukosit

Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh.

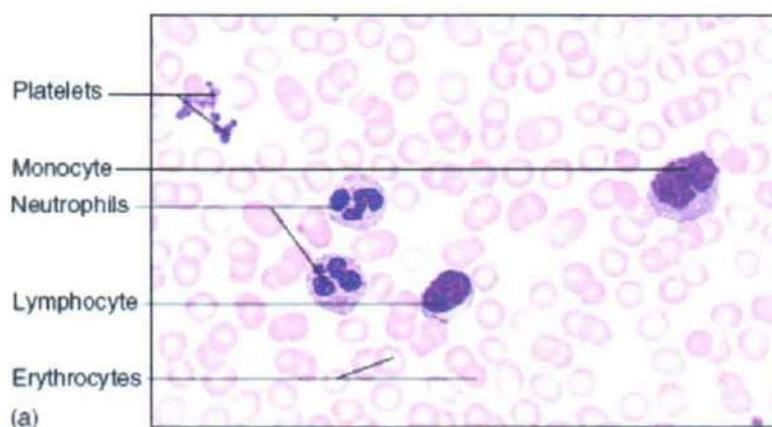
2.3.1 Sifat umum leukosit

Leukosit sebagian dibentuk di sumsum tulang (granulosit dan monosit serta sedikit limfosit) dan sebagian lagi di jaringan limfe (limfosit dan sel-sel plasma). Setelah dibentuk, sel-sel ini diangkut dalam darah menuju berbagai bagian tubuh untuk digunakan. Manfaat dari leukosit adalah bahwa kebanyakan ditranspor ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, sehingga dapat menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada. Granulosit dan monosit mempunyai kemampuan khusus untuk mencari dan merusak setiap benda asing yang menyerbu (Guyton and Hall, 2006).

2.3.2 Macam-macam leukosit

Terdapat enam macam leukosit yang secara normal ditemukan dalam darah. Keenam sel tersebut adalah netrofil polimorfonuklear, eosinofil polimorfonuklear, basofil polimorfonuklear, monosit, limfosit dan kadang-kadang sel plasma. Selain itu, terdapat sejumlah besar trombosit, yang

merupakan pecahan dari tipe ketujuh sel darah putih yang dijumpai di sumsum tulang yaitu megakariosit. Ketiga tipe pertama dari sel, yaitu sel-sel polimorfonuklear (PMN), seluruhnya mempunyai gambaran granular, karena itu disebut juga dengan granulosit, atau dalam terminologi klinis sering disebut poli karena intinya yang multipel.



Gambar 2.2 Berbagai macam tipe leukosit (Guyton and Hall, 2006)

Granulosit dan monosit melindungi tubuh terhadap organisme penyerang terutama dengan cara mencernakannya, yaitu melalui fagositosis (Guyton and Hall, 2006).

2.3.3 Konsentrasi berbagai macam leukosit

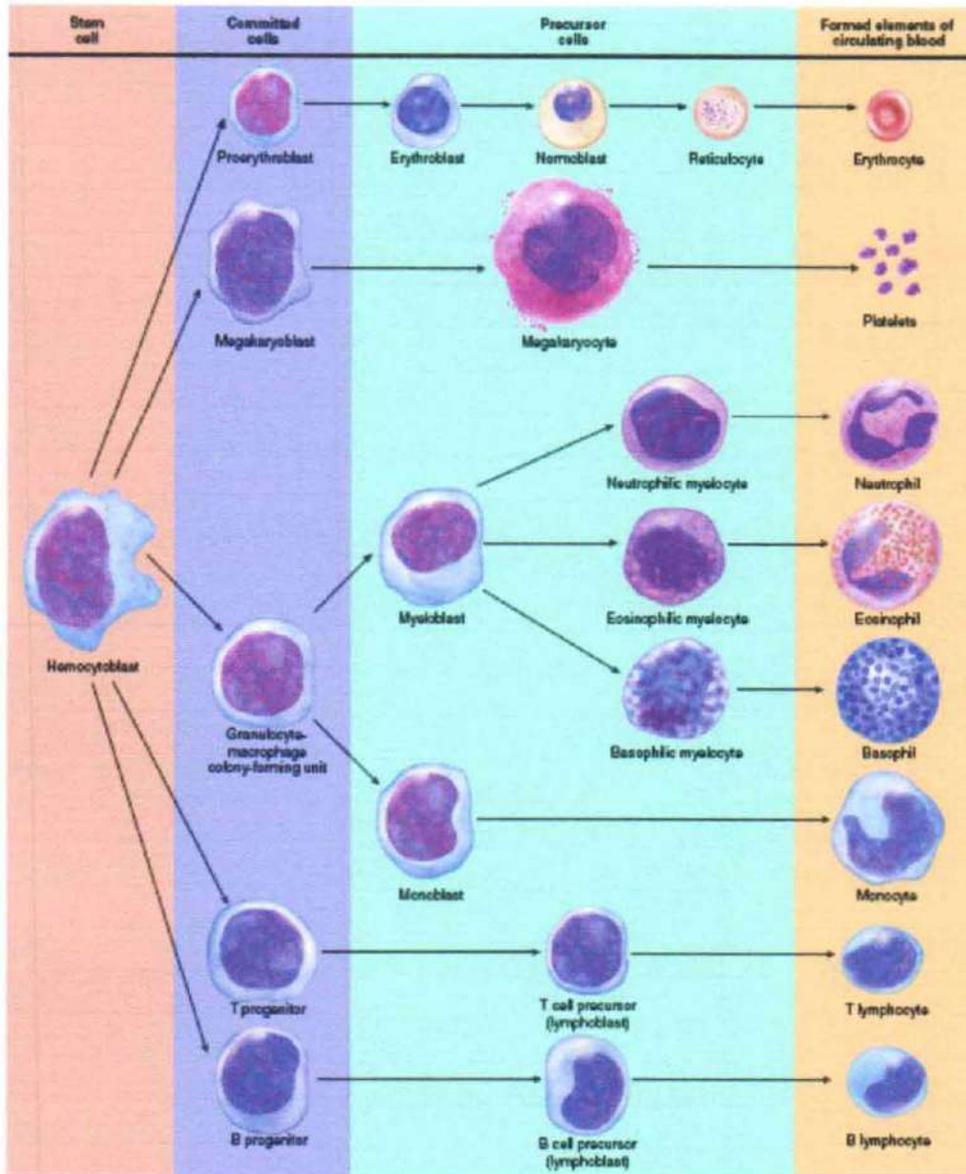
Pada manusia dewasa dapat dijumpai sekitar 7000 sel darah putih per mikroliter darah (Guyton and Hall, 2006). Persentase normal dari leukosit dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.1 Berbagai jenis leukosit (Fox, 2003)

| Cell type | Function | Count (% of leukocytes) |
|---|---|-------------------------|
| Neutrophilic band granulocytes (band neutrophil) | Precursors of segmented cells that provide antibacterial immune response | 0–4% |
| Neutrophilic segmented granulocyte (segmented neutrophil) | Phagocytosis of bacteria; migrate into tissue for this purpose | 50–70% |
| Lymphocytes (B- and T-lymphocytes, morphologically indistinguishable) | B-lymphocytes (20% of lymphocytes) mature and form plasma cells → antibody production. T-lymphocytes (70%): cytotoxic defense against viruses, foreign antigens, and tumors. | 20–50% |
| Monocytes | Phagocytosis of bacteria, protozoa, fungi, foreign bodies. Transformation in target tissue | 2–8% |
| Eosinophilic granulocytes | Immune defense against parasites, immune regulation | 1–4% |
| Basophilic granulocytes | Regulation of the response to local inflammatory processes | 0–1% |

2.3.4 Pembentukan leukosit

Diferensiasi dini dari sel *stem hematopoetik pluripoten* menjadi berbagai tipe sel *stem committed* ditunjukkan pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Pembentukan sel darah putih (Matter, 2003)

Selain sel-sel *committed* untuk membentuk sel darah merah, terbentuk pula dua silsilah utama dari sel darah putih, silsilah mielositik dan limfositik.

Granulosit dan monosit hanya ditemukan pada sumsum tulang. Limfosit dan sel plasma terutama diproduksi dalam berbagai organ limfogen, termasuk

kelenjar limfe, limpa, timus, tonsil dan berbagai kantong jaringan limfoid dimana saja dalam tubuh, terutama di sumsum tulang dan plak *Peyer* dibawah epitel dinding usus.

Leukosit yang dibentuk dalam sumsum tulang, terutama granulosit, disimpan dalam sumsum sampai mereka diperlukan di sistem sirkulasi. Dalam keadaan normal, granulosit yang bersirkulasi dalam seluruh darah kira-kira tiga kali jumlah yang disimpan dalam sumsum tulang. Jumlah ini sesuai dengan persediaan granulosit selama enam hari.

Limfosit sebagian besar disimpan dalam berbagai area jaringan limfoid kecuali pada sedikit limfosit yang secara temporer diangkut dalam darah (Guyton and Hall, 2006).

2.3.5 Masa hidup leukosit

Alasan utama keberadaan sel darah putih dalam darah adalah karena sel diangkut dari sumsum tulang atau jaringan limfoid ke area-area tubuh yang memerlukan. Masa hidup granulosit sesudah dilepaskan dari sumsum tulang normalnya 4 sampai 8 jam dalam darah sirkulasi, dan 4 sampai 5 hari berikutnya dalam jaringan. Pada keadaan infeksi jaringan yang berat, masa hidup keseluruhan seringkali berkurang sampai hanya beberapa jam, karena granulosit dengan cepat menuju daerah infeksi, melakukan fungsinya dan masuk dalam proses dimana sel-sel itu sendiri dimusnahkan.

Monosit juga mempunyai masa edar yang singkat yaitu 10 sampai 20 jam, berada dalam darah sebelum mengembara melalui membran kapiler ke dalam jaringan. Begitu masuk ke dalam jaringan, sel-sel ini membengkak sampai

ukurannya menjadi besar sekali untuk menjadi makrofag jaringan dan dalam bentuk ini, sel tersebut dapat hidup berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun kecuali bila mereka dimusnahkan karena melakukan fungsi fagositik. Makrofag jaringan ini membentuk dasar bagi sistem makrofag jaringan, yang merupakan pertahanan lanjutan dalam jaringan untuk melawan infeksi.

Limfosit terus menerus memasuki sistem sirkulasi bersama dengan pengaliran limfe dari nodus limfe dan jaringan limfoid lain. Kemudian setelah beberapa jam, limfosit berjalan kembali ke jaringan dengan cara *diapedesis* dan selanjutnya kembali memasuki limfe dan kembali ke jaringan limfoid atau ke darah lagi, demikian seterusnya, sehingga terjadi sirkulasi limfosit yang terus menerus di seluruh tubuh. Limfosit memiliki masa hidup berminggu-minggu, berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun, tetapi hal ini bergantung pada kebutuhan tubuh akan sel-sel tersebut (Guyton and Hall, 2006).

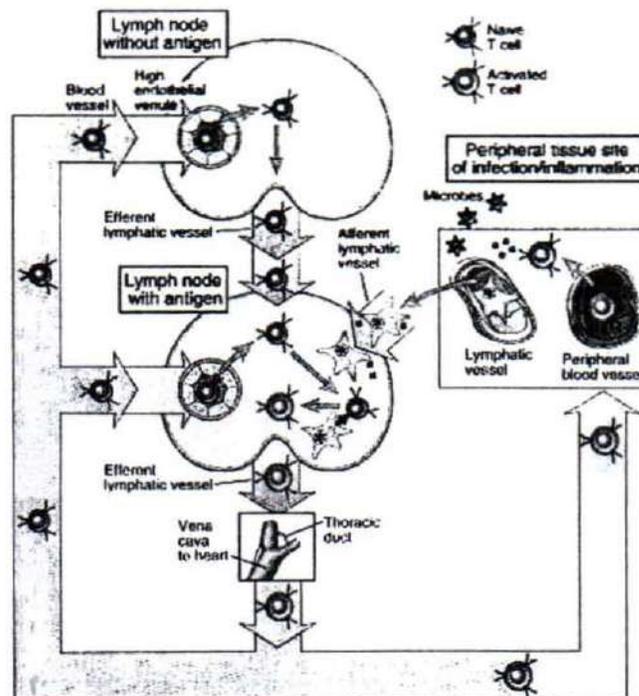
2.3.6 Mobilisasi leukosit

Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh. Setelah mengalami pendewasaan di sumsum tulang (PMN) dan jaringan limfe (limfosit), leukosit akan diangkut menuju ke berbagai bagian tubuh lain. Distribusi dan redistribusi leukosit dari atau ke jaringan limfoid sekunder ternyata 90% melalui peredaran darah (Roitt, 1995; Kuby, 2003). Sel-sel granulosit dan monosit yang mempunyai kemampuan untuk mencari dan merusak setiap benda asing yang masuk akan diangkut secara khusus menuju ke tempat-tempat yang mengalami peradangan hebat (Guyton and Hall, 2006).

Untuk lebih menjelaskan mengenai mobilisasi leukosit maka akan dibahas mengenai resirkulasi dan migrasi dari leukosit.

Resirkulasi leukosit

Pada kondisi normal, limfosit yang matur akan mengalami resirkulasi terus menerus melalui sistem pembuluh darah menuju ke jaringan perifer dan sistem limfoid. Resirkulasi limfosit tersebut merupakan langkah *surveillance* imunologis dari limfosit (Dhabbar *et al*, 1995). Kemampuan limfosit untuk berpindah dari dalam darah, limfe, jaringan limfoid dan jaringan non limfoid sangat penting dalam memungkinkan sistem imun untuk bereaksi dengan antigen dimanapun dalam tubuh (Abbas *et al*, 2007). Gambar 2.4. menjelaskan mengenai resirkulasi limfosit.



Gambar 2.4 Resirkulasi limfosit (Abbas *et al*, 2007)

Limfosit beredar melalui aliran darah dan aliran getah bening menuju dan kembali ke jaringan limfoid sekunder (Abbas *et al*, 2007). Limfosit keluar melalui pembuluh darah aferen limfatik dan masuk ke kelenjar limfe. Kemudian pembuluh darah eferen limfatik akan melewatkan limfosit dari kelenjar limfe ke sirkulasi vena melalui duktus toraksikus, yang mengakibatkan kembalinya limfosit ke dalam jaringan sekunder (Stites *et al*, 1997).

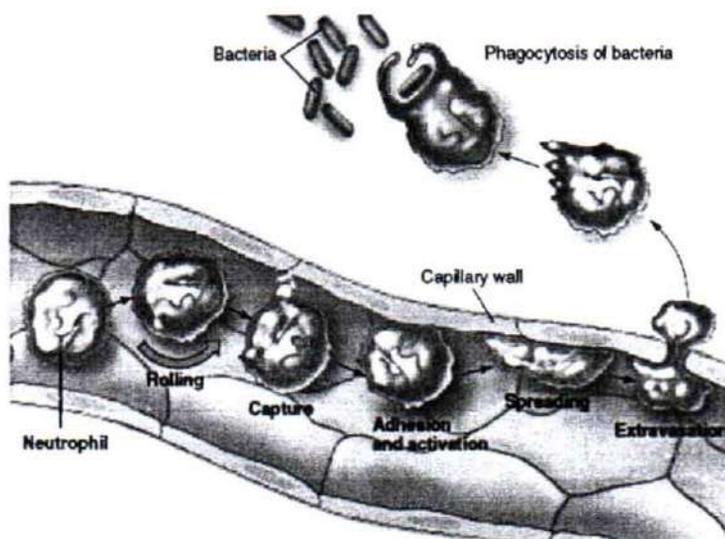
Limfosit yang beredar dalam sirkulasi darah kira-kira berjumlah 20% dari seluruh jumlah limfosit dalam darah orang dewasa (Roitt, 1995). Limfosit T mengalami resirkulasi lebih cepat dibandingkan dengan limfosit B (Lee *et al*, 1999).

Migrasi leukosit

Limfosit dan fagositik mononuklear dapat bersirkulasi antara jaringan limfoid dan jaringan non limfoid, sebaliknya neutrofil membuat perjalanan satu arah dari sumsum tulang ke jaringan dimana mereka membawa keluar fungsi efekturnya dan setelah itu sel tersebut akan mati (Abbas *et al*, 2007).

Pada umumnya, migrasi leukosit melewati endotel tergantung pada permukaan endotel tempat berinteraksinya endotel dengan leukosit, *haemodynamic shear* pada pembuluh dan ekspresi dari molekul adhesi pada leukosit maupun endotel. Berdasar ketiga faktor diatas, maka migrasi leukosit biasanya terjadi di venul (Roitt, 1995). Marginasi leukosit diikuti dengan rolling, adhesi yang kuat, emigrasi dan migrasi ke ruang interstitial (Ley, 1992). Stites *et al* (1997) membagi marginasi menjadi tiga fase dimana masing-masing diperantarai oleh molekul adhesi yang berbeda yaitu pada fase pertama adalah

rolling yang diperantarai oleh selektin, fase kedua adalah aktivasi yang diperantarai oleh kemoatraktan dan fase ketiga adalah pengikatan yang kuat diperantarai oleh integrin. Perpindahan leukosit dari marginasi ke sirkulasi melibatkan perubahan permukaan terhadap perlekatannya dengan endotel pembuluh darah. Perlekatan tersebut menurun mungkin ada hubungannya dengan ditingkatkannya mobilisasi pada leukosit yang bersirkulasi (Kuby, 2003).



Gambar 2.5 Tahap-tahap migrasi leukosit (Fox, 2003)

Homing atau *ecotaxis* adalah suatu istilah yang menjelaskan kecenderungan limfosit untuk bermigrasi ke area yang spesifik di dalam jaringan limfoid dan menghabiskan lebih banyak waktunya di jaringan limfoid daripada di dalam darah tepi (Jain, 1986; Lee *et al*, 1999). Migrasi tersebut dikendalikan oleh reseptor yang terdapat pada endotel vaskular yang berinteraksi dengan reseptor spesifik (*specific homing receptor*) yang terdapat dalam limfosit (Kresno, 1996). *Homing receptor* tersebut berinteraksi dengan

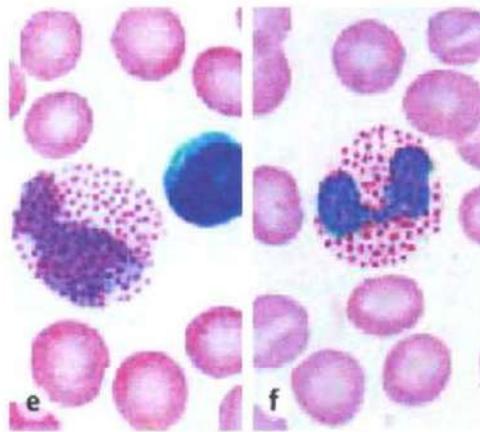
Produksi eosinofil

Produksi eosinofil di sumsum tulang tidak hanya bergantung pada *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) dan interleukin-3 (IL-3), yang memicu diferensiasi semua tipe granulosit, tetapi juga pada IL-5, yang berfungsi sebagai *eosinophil growth factor* yang spesifik. Waktu hidup eosinofil relatif singkat: dengan waktu pematangan di sumsum tulang 2-6 hari, waktu paruh dalam sirkulasi 6-12 jam, dan waktu bertahan dalam jaringan ikat hanya beberapa hari. Peningkatan konsentrasi eosinofil (eosinofilia) dalam darah dapat terjadi pada beberapa keadaan klinis tetapi biasanya berhubungan dengan penyakit alergi dan infeksi parasit; peningkatan ini biasanya dimediasi oleh IL-5 (Adachi and Alam, 1998). Eosinofilia pada jaringan padat dapat juga terjadi pada kelainan ini, sebagai hasil dari pelepasan kemokin dan mediator-mediator lain secara lokal oleh sel mast, makrofag, limfosit dan sel-sel lain. Parasit protozoa dan intraseluler tidak menimbulkan respon eosinofil (Beutler *et al*, 1995; Giembycz and Lindsay, 1999; Greer *et al*, 2004; Stites *et al*, 1997).

Fungsi eosinofil

Permukaan eosinofil mengandung reseptor IgE, tetapi tipe yang berafinitas rendah (*FcεRII*) dan kebanyakan tidak terpakai jika kadar IgE dalam serum dalam batas normal. Kira-kira 10-30% eosinofil orang normal juga mengandung reseptor IgG berafinitas rendah (*FcγRIII*) atau afinitas intermediate (*FcγRII*). Sebagai tambahan, 40-50% juga memiliki reseptor untuk komponen komplemen. Reseptor yang bermacam-macam tipe ini yang memungkinkan eosinofil mengenali dan berikatan dengan antigen tertentu yang

dilapisi oleh IgE, IgG atau derivat komplemen, sebanyak neutrofil atau makrofag mengenali partikel yang teropsonisasi. Pengikatan akan mengaktivasi eosinofil, yang ditandai dengan (1) peningkatan jumlah reseptor permukaan *Fc* dan komplemen serta beberapa penanda permukaan penting lainnya, (2) peningkatan metabolisme oksidatif, (3) sintesis *de novo* dan pelepasan derivat arakidonat *leukotriene C₄* (*LTC₄*) dan mediator-mediator proinflamasi lain yang penting, serta (4) peningkatan aktivitas sitotoksik. Aktivasi juga dapat diinduksi atau ditingkatkan dengan cara kontak dengan sel endotel yang diaktifkan oleh limfokin derivat sel T (GM-CSF, IL-3 dan IL-5), atau oleh monokin seperti IL-1 dan *tumor necrosis factor alpha* (*TNF α*).



Gambar 2.6 Eosinofil matur (Kuehnel, 2003)

Eosinofil yang aktif dapat memfagositir banyak tipe partikel *in vitro* (termasuk bakteri, jamur, mikoplasma, partikel inert dan kompleks antigen antibodi), tetapi bukti bahwa mereka memainkan peranan yang signifikan sebagai fagosit *in vivo* masih diragukan. Sebagai gantinya mereka beraksi sendiri dengan mengikatkan diri secara erat pada partikel yang dilapisi antibodi maupun komplemen dan melepaskan kandungan granulnya menuju permukaan

melalui degranulasi ekstraseluler. Hal ini terjadi, contohnya, saat eosinofil beragregasi di sekitar parasit jaringan yang besar, seperti *Trichinella*, *Schistosoma* atau *Fasciola*. Protein granular kationik dapat mengikatkan dirinya menuju permukaan bermuatan negatif dari parasit untuk mengeluarkan efek sitotoksiknya. Contohnya, eosinofil peroksidase cenderung mengikatkan dirinya dengan jalan ini dan memproduksi konsentrasi metabolit oksigen toksik menuju permukaan target. Eosinofil juga berikatan dan menyerang simpanan besar dari kompleks antigen-antibodi di jaringan. Kandungan granul dilepaskan selama respon partikuler yang sering dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan host. Sebagai contoh, *major basic protein* toksik pada epitel pernapasan dan ditemukan dengan konsentrasi sangat meningkat dalam sputum dan sekresi pernafasan dari orang asma. Protein granul yang heksagonal, kristal bipiramidal, disebut dengan kristal *Charcot-Leyden*, juga dapat ditemukan dalam sputum penderita asma; karena mereka yang mengakibatkan penanda klinis untuk reaksi pernafasan yang dimediasi oleh eosinofil. (Beutler *et al*, 1995; Gienbycz and Lindsay, 1999; Greer *et al*, 2004; Stites *et al*, 1997). Karakteristik eosinofil secara morfologis ialah dengan adanya granul-granul kristaloid.

2.4 Imunoglobulin

Imunoglobulin (Ig) merupakan suatu molekul glikoprotein yang tersusun dari 82-96% polipeptida dan 4-18% karbohidrat dan berfungsi untuk pertahanan tubuh (Stites *et al*, 1997; Kuby, 2003). Molekul imunoglobulin dapat dikategorikan menjadi tiga berdasarkan *isotypic determinants*, *allotypic*

determinants dan *idiotypic determinants*. Berdasarkan *isotypic determinants*, maka Ig dapat dibedakan menjadi lima macam yaitu IgG, IgM, IgA, IgD dan IgE (Kuby, 2003).

IgG dalam serum kira-kira 80% dari jumlah total serum IgG. Ada beberapa subklas Ig, yaitu IgG1, IgG2, IgG3 dan IgG4. IgG1, IgG3 dan IgG4 dapat menembus plasenta dan dikenal sebagai aktivator komplemen. Sedangkan afinitas IgG2 relatif kurang terhadap sistem komplemen. Waktu paruh dalam darah masing-masing IgG1 (21 hari), IgG2 (20 hari), IgG3 (7 hari) dan IgG4 (21 hari) (Stites *et al*, 1997; Kuby, 2003).

Imunoglobulin M dalam serum kira-kira 5-10% dari jumlah total serum Ig. IgM merupakan Ig yang disekresi pada respons primer dan disintesa pada saat neonatus. Molekul IgM tersebut dapat mengenal multidimensional imunogen (virus dan sel darah merah). Daya netralisasi terhadap infeksi virus dan aktivitas sistem komplemen pada IgM lebih kuat dan efisien dibandingkan dengan IgG. IgM dapat bekerja bersama dengan secretory Ig (sIgA). Kadar IgM pada cairan interseluler sangat rendah, sebab IgM tidak dapat berdifusi dengan baik. Waktu paruh dalam darah adalah 10 hari (Stites *et al*, 1997; Kuby, 2003).

IgA dalam serum kira-kira 10-15% dari jumlah total serum Ig. IgA tersebut merupakan Ig yang dominan pada organ sekresi eksternal seperti kelenjar susu, air liur, air mata, mukosa saluran nafas, mukosa saluran pencernaan dan urogenital. IgA tersebut berfungsi terutama untuk menghambat pertumbuhan koloni bakteri maupun virus yang akan menginfeksi melalui

mukosa. Waktu paruh dalam darah selama 6 hari (Stites *et al*, 1997; Kuby, 2003).

IgD dalam serum kira-kira 0,2% atau 30 mikrogram/ml. Fungsi biologik IgD masih belum banyak diketahui. Waktu paruh dalam darah relatif singkat hanya 3 hari (Stites *et al*, 1997; Kuby, 2003).

Konsentrasi IgE dalam serum kira-kira 0,002% atau 0,3 mikrogram/ml. Fungsinya sebagai mediator reaksi hipersensitifitas. Waktu paruh dalam darah cukup singkat yaitu 2 hari (Stites *et al*, 1997; Kuby, 2003).

Imunoglobulin didistribusikan melalui peredaran darah (Roitt, 1995 ; Kuby, 2003).

2.5 Sitokin

Sitokin merupakan semua mediator kimia yang dihasilkan oleh sel komponen pertahanan tubuh, kecuali yang dihasilkan oleh kelenjar khusus (hormon). Sitokin meliputi limfokin dan mediator lain yang dapat berfungsi asebagai sistem pengendalian antar sel pertahanan tubuh (Kuby, 2003).

Beberapa contoh dari sitokin (interleukin = IL), asal sekresi, target dan mekanisme aktivasi terdapat pada tabel 2.2 (Kuby, 2003).

Tabel 2.2 Beberapa Tempat Produksi, Target dan Efek Interleukin (Kuby, 2003)

| Cytokine* | Secreted by** | Targets and effects |
|---|---|--|
| SOME CYTOKINES OF INNATE IMMUNITY | | |
| Interleukin 1 (IL-1) | Monocytes, macrophages, endothelial cells, epithelial cells | Vasculature (inflammation); hypothalamus (fever); liver (induction of acute phase proteins) |
| Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) | Macrophages | Vasculature (inflammation); liver (induction of acute phase proteins); loss of muscle, body fat (cachaxia); induction of death in many cell types; neutrophil activation |
| Interleukin 12 (IL-12) | Macrophages, dendritic cells | NK cells; influences adaptive immunity (promotes T_H1 subset) |
| Interleukin 6 (IL-6) | Macrophages, endothelial cells | Liver (induces acute phase proteins); influences adaptive immunity (proliferation and antibody secretion of B cell lineage) |
| Interferon α (IFN- α) (This is a family of molecules) | Macrophages | Induces an antiviral state in most nucleated cells; increases MHC class I expression; activates NK cells |
| Interferon β (IFN- β) | Fibroblasts | Induces an antiviral state in most nucleated cells; increases MHC class I expression; activates NK cells |
| SOME CYTOKINES OF ADAPTIVE IMMUNITY | | |
| Interleukin 2 (IL-2) | T cells | T-cell proliferation; can promote AICD, NK cell activation and proliferation; B-cell proliferation |
| Interleukin 4 (IL-4) | T_H2 cells; mast cells | Promotes T_H2 differentiation; isotype switch to IgE |
| Interleukin 5 (IL-5) | T_H2 cells | Eosinophil activation and generation |
| Interleukin 25 (IL-25) | Unknown | Induces secretion of T_H2 cytokine profile |
| Transforming growth factor β (TGF- β) | T cells, macrophages, other cell types | Inhibits T-cell proliferation and effector functions; inhibits B-cell proliferation; promotes isotype switch to IgE; inhibits macrophages |
| Interferon γ (IFN- γ) | T_H1 cells; CD8 ⁺ cells; NK cells | Activates macrophages; increases expression MHC class I and class II molecules; increases antigen presentation |

*Many cytokines play roles in more than one functional category.

**Only the major cell types providing cytokines for the indicated activity are listed; other cell types may also have the capacity to synthesize the given cytokine.

***Also note that activated cells generally secrete greater amounts of cytokine than unactivated cells.

Sitokin didistribusikan melalui peredaran darah (Roitt, 1995 ; Kuby, 2003).

2.6 Stres dan Daya Tahan Tubuh

Fenomena interaksi sistem pertahanan tubuh dan sistem saraf telah dapat ditunjukkan (Setyawan, 1996). Beban fisik, stres psikologik, beban psikososial atau kematian, stres ujian dapat mempengaruhi respon komponen sistem ketahanan tubuh (Jawi, 2005).

2.6.1 Latihan fisik dan daya tahan tubuh

Latihan fisik yang teratur, berbeban individual dan menyenangkan dapat memperbaiki dan memperlambat penurunan fungsi organ-organ tubuh, menyehatkan tubuh serta meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi (Setyawan, 1996).

Pemberian rangsang fisik yang berulang pada sistem tubuh akan menyebabkan proses adaptasi yang dapat mencerminkan peningkatan kemampuan fungsional. Tetapi jika besarnya rangsang tidak cukup untuk proses pembebanan tubuh maka tidak akan terjadi proses adaptasi. Sebaliknya jika rangsang terlalu besar yang tidak dapat ditoleransi oleh tubuh akan mengakibatkan jejas dan mengganggu keadaan homeostasis pada sistem tubuh. Beban rangsang fisik yang demikian itu dinamakan dengan stresor (Bullock and Henze, 2000).

Belum ada kesepakatan mengenai beban dan bentuk latihan fisik yang meningkatkan atau menurunkan daya tahan tubuh dari beberapa hasil penelitian (Mackinnon, 1992). Beberapa penelitian dalam bentuk sekali maupun program latihan fisik telah dikaji dengan berbagai macam variabel ketahanan tubuh. Secara umum, hasil penelitian menunjukkan bahwa latihan fisik dengan intensitas tinggi merusak daya tahan tubuh, sedangkan bentuk beban latihan fisik sedang belum ada kesamaan hasil penelitian (Mackinnon, 1992).

Sejak tahun 1918, Cowles telah mengungkap bahwa latihan fisik berat memberikan fenomena penurunan aktivitas daya tahan tubuh. Model penelitian

tersebut telah menjadi perhatian orang dan telah berkembang pesat sejak tahun 1970 (Mackinnon, 1992).

a. Daya tahan tubuh pada sekali latihan fisik

Fenomena pengaruh beban latihan fisik terhadap daya tahan tubuh telah diamati pada orang yang bukan atlet. Sekali latihan berat dapat meningkatkan kerentanan tubuh terhadap infeksi saluran nafas atas serta menimbulkan penurunan IgG (Nieman, 1993).

b. Latihan fisik dan respons hormonal

Latihan fisik dapat menunjukkan perubahan sekresi kelenjar hormon pada hipofisis, tiroid, pankreas, adrenal dan kelamin (Bullock and Henze, 2000). Salah satu kunci respon neuro-hormonal pada latihan fisik adalah peningkatan aktivitas simpato-adrenal (Bouchard, 1993). Respon perubahan tersebut erat hubungannya terhadap kebutuhan proses metabolisme dan homeostasis tubuh. Sekali latihan fisik dapat mengakibatkan perubahan pada stres hormon yang meliputi peningkatan ACTH, kortisol, enkepalin, tiroksin, katekolamin dan penurunan hormon anabolik (insulin dan testosteron) (Bullock and Henze, 2000).

c. Mekanisme interaksi latihan fisik dan ketahanan tubuh

Latihan fisik merupakan bentuk dari stres fisik yang dapat meningkatkan sekresi berbagai hormon (kortisol, endorfin, katekolamin) sehingga berfungsi sebagai imunomodulator (Mackinnon, 1992; Putra, 1999).

Glukokortikoid mempunyai efek dualisme, dimana kebanyakan sebagai immunosupresan, tetapi dapat memberikan efek proliferasi limfosit B menjadi sel plasma dan merangsang sintesa imunoglobulin (Stites *et al*, 1997). Sedangkan katekolamin dapat menekan sistem imun (Crary *et al*, 1983; Stites *et al*, 1997).

2.7 Alergi

Alergi merupakan salah satu efek samping dari perkembangan imunitas tubuh (Guyton and Hall, 2006). Penyakit ini terjadi jika terjadi kontak dengan alergen yang menginduksi respon imun, yang dikenal dengan sensitisasi (Terr, 1997).

2.7.1 Prevalensi

Alergi adalah penyakit yang umum di seluruh dunia. Predileksi untuk penyakit alergi yang spesifik, juga tergantung kelompok umur, jenis kelamin dan ras. Prevalensi sensitivitas terhadap suatu alergen ditentukan baik secara predileksi genetik maupun faktor geografis dan kultural yang dapat bertanggungjawab terhadap kontak dengan alergen (Terr, 1997).

2.7.2 Alergen

Alergen adalah setiap antigen yang dapat mengakibatkan alergi. Istilah ini dipakai untuk menyebut antigennya sendiri maupun sumber dari antigen, seperti bulu binatang, gigitan serangga maupun produk dari makanan (Terr, 1997).

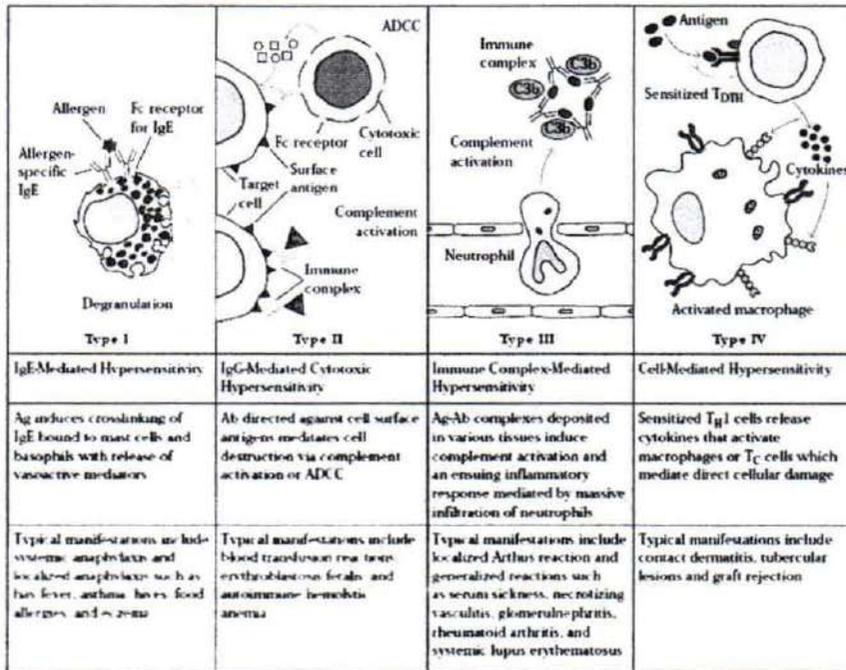
Setiap benda asing yang dapat menginduksi respon imun disebut sebagai alergen. Didapatkan bermacam-macam zat kimia baik yang asalnya natural

maupun sintetik diketahui sebagai alergen. Zat kimia kompleks organik, terutama protein, biasanya menyebabkan alergi yang diperantarai antibodi, dan zat organik yang simpel, zat kimia anorganik dan metal lebih sering menyebabkan alergi yang diperantarai oleh sel T. Kontak dengan alergen dapat melalui inhalasi, makanan, injeksi maupun kontak kulit (Terr, 1997). Kebanyakan respon signifikan dari IgE manusia adalah melindungi dari infeksi parasit. Setelah individu kontak dengan parasit maka kadar IgE serum meningkat dan tetap tinggi sampai parasit dapat dibersihkan dari tubuh. Beberapa orang, mempunyai suatu abnormalitas yang disebut dengan atopi, yaitu suatu predisposisi hereditas pada perkembangan hipersensitivitas tipe cepat melawan antigen-antigen yang umum. Defek dari regulasi IgE mengakibatkan individu atopi menstimulasi produksi IgE yang tidak seharusnya karena rangsangan dari antigen nonparasit dan mengakibatkan kerusakan jaringan karena reaksi hipersensitivitas tipe I. Respon abnormal dari IgE dari individu yang atopi dipengaruhi oleh genetik, biasanya terjadi dalam satu keluarga. Individu yang atopi mempunyai kadar IgE tinggi yang beredar di sirkulasi dan juga memiliki jumlah eosinofil darah yang melebihi normal. Individu ini lebih peka terhadap alergi seperti *hay fever*, eksim dan asma.

2.7.3 Mekanisme alergi

Ada dua tipe besar dari alergi, yaitu (1) hipersensitivitas tipe cepat (tipe I), yang berhubungan dengan respon abnormal dari limfosit B terhadap alergen yang mengakibatkan gejala dalam beberapa detik sampai beberapa menit, dan (2) hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV) yang merupakan akibat respon

abnormal sel T yang mengakibatkan gejala dalam 24 sampai 72 jam setelah kontak dengan alergen (Fox, 2003; Kuby, 2003, Abbas *et al*, 2007).

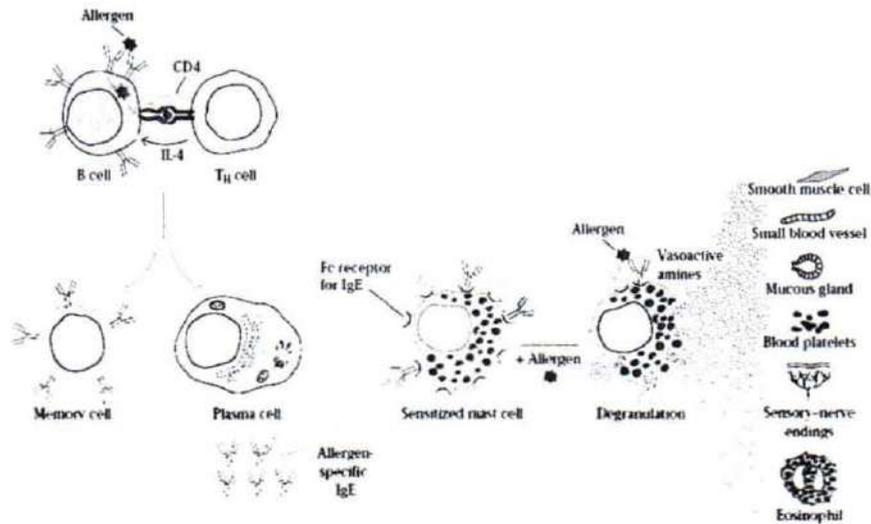


Gambar 2.7 Berbagai macam reaksi hipersensitivitas (Kuby, 2003)

2.7.4 Reaksi hipersensitivitas tipe cepat (tipe I)

Reaksi hipersensitivitas tipe cepat dapat mengakibatkan rinitis alergi (*chronic or stuffy nose*); konjungtivitis (mata merah); asma karena alergi; dermatitis atopik (urtikaria atau *hives*) dan gejala yang lain. Gejala-gejala tersebut dihasilkan karena respon imun terhadap alergen. Pada orang-orang yang tidak alergi, alergen menstimulasi salah satu tipe dari limfosit T *helper*, sel T_{H1}, untuk mensekresi interferon- γ dan interleukin-2. Pada orang-orang yang alergi, sel dendritik menstimulasi tipe yang lain dari limfosit T *helper*, sel T_{H2}, untuk mensekresi limfokin yang lain, termasuk interleukin-4 dan interleukin-13,

yang selanjutnya akan menstimulasi limfosit B dan sel plasma untuk mensekresi antibodi dari subklas IgE selain antibodi IgG yang normal.

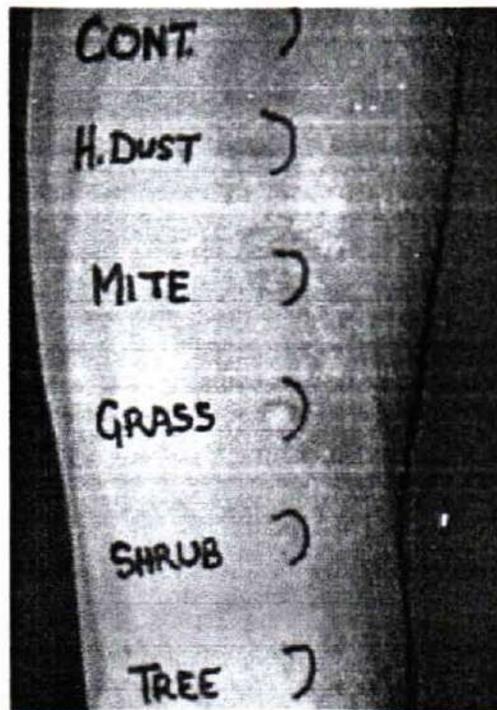


Gambar 2.8 Mekanisme terjadinya alergi tipe cepat (Fox, 2003; Kuby, 2003)

Tidak seperti antibodi IgG, IgE tidak bersirkulasi dalam darah. Karena mereka terikat pada sel mast dan basofil, yang mempunyai reseptor membran untuk antibodi ini. Saat terjadi paparan lagi dengan alergen yang sama, maka alergen akan terikat pada antibodi yang melekat pada sel mast dan basofil. Stimulasi dari sel ini akan mensekresi beberapa substansi kimia, termasuk histamin. Selama proses ini, leukosit juga dapat mensekresi prostaglandin D dan molekul yang berhubungan disebut dengan *leukotriene*. Substansi kimia ini diproduksi untuk mengakibatkan gejala dari alergi. Seperti diketahui bahwa histamin akan menstimulasi kontraksi otot polos pada saluran pernapasan tetapi

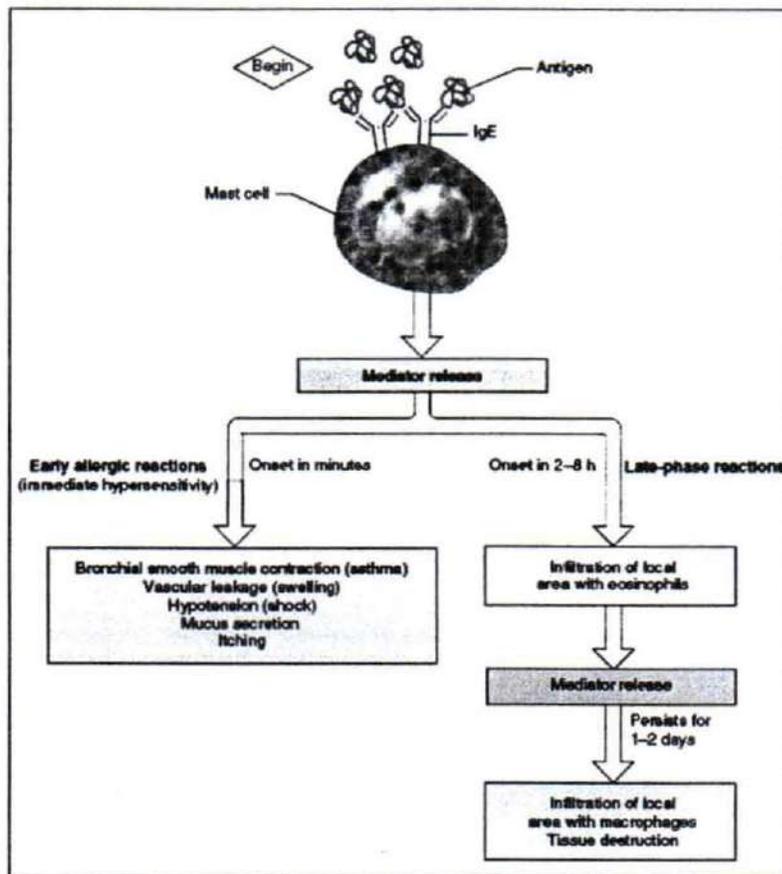
mengakibatkan relaksasi otot polos pada dinding pembuluh darah. Efek yang berbeda ini karena perbedaan reseptor histamin pada jaringan target.

Gejala dari *hay fever* (gatal, bersin, keluar air mata, pilek) disebabkan karena produksi histamin dalam jumlah besar dan dapat dihilangkan secara efektif dengan obat antihistamin yang memblok reseptor histamin H₁. Pada asma, kesulitan bernapas disebabkan karena inflamasi dan kontraksi otot polos pada bronkioli sebagai hasil pelepasan substansi kimia oleh sel mast dan eosinofil. Selain itu, bronkokonstriksi pada asma juga disebabkan oleh *leukotriene*, yang disekresi terutama oleh eosinofil.



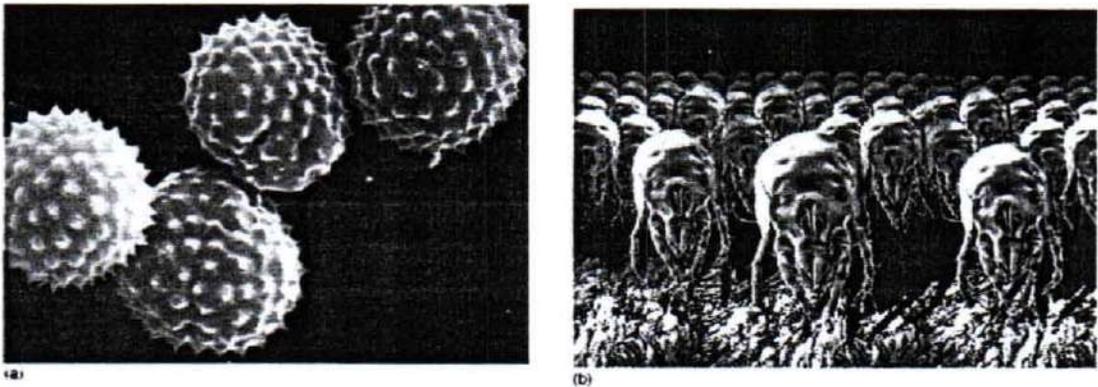
Gambar 2.9 Tes kulit dengan injeksi intradermal pada reaksi hipersensitivitas tipe cepat (Kuby, 2003).

Hipersensitivitas tipe cepat terhadap beberapa antigen biasanya dites dengan menginjeksikan bermacam-macam antigen dibawah kulit (Gambar 2.9). Dengan cepat suatu reaksi *flare and wheal* terjadi pada orang yang alergi terhadap antigen tersebut. Reaksi ini berhubungan dengan pelepasan histamin dan mediator kimia yang lain: *flare* (kemerahan) berhubungan dengan vasodilatasi dan *wheal* (indurasi) dihasilkan karena terjadi edema lokal.



Gambar 2.10 Beberapa tahapan respon alergi (Widmaier *et al*, 2004).

Alergen yang mengakibatkan hipersensitivitas tipe cepat termasuk bermacam-macam makanan, gigitan serangga dan *pollen grain*. Alergi yang umum terjadi pada tipe ini adalah *seasonal hay fever*, yang sering disebabkan oleh *ragweed (Ambrosia) pollen grain* (Gambar 2.11a). Seseorang yang mengalami rinitis alergi kronik dan asma karena alergi terhadap debu atau bulu, biasanya alergi terhadap *tiny mite* (Gambar 2.11b) yang hidup dalam debu (Fox, 2003; Kuby, 2003).



Gambar 2.11 Beberapa alergen yang umum. (a) Elektron mikroskop dari ragweed (*Ambrosia*) (b) Elektron mikroskop dari house dust mites (*Dermatophagoides*) (Fox, 2003; Kuby, 2003)

Komponen yang sangat cepat berpengaruh dari hipersensitivitas tipe cepat seringkali memproses suatu reaksi fase lambat yang bertahan beberapa jam sampai beberapa hari, selama sejumlah besar leukosit, khususnya eosinofil bermigrasi ke daerah inflamasi. Kemoatraktan yang terlibat termasuk sitokin yang dilepaskan oleh sel mast dan sel T *helper* yang diaktifkan oleh alergen. Eosinofil pada daerah tersebut mensekresi mediator yang memperlama proses

inflamasi dan jaringan yang terkena sehingga alergen memerlukan waktu untuk menimbulkan respon.

Fungsi fisiologis normal dari jalur IgE-sel mast-eosinofil ialah untuk mencegah invasi dari parasit yang tidak dapat difagositir. Mediator-mediator yang dikeluarkan menstimulasi respon inflamasi terhadap parasit, dan eosinofil berperan sebagai sel pembunuh yang kuat melawan dengan mensekresi beberapa toksin. Tetapi bagaimana sistem ini juga dapat terinduksi oleh agen yang tidak merusak masih belum jelas (Guyton and Hall, 2006).

2.7.5 Reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV)

Pada reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV), seperti namanya, gejala yang ditimbulkan membutuhkan waktu yang lebih lama (jam sampai hari) untuk timbul dibandingkan dengan reaksi hipersensitivitas tipe cepat. Hal ini mungkin dikarenakan pada reaksi hipersensitivitas tipe cepat diperantarai oleh antibodi, sedangkan pada reaksi hipersensitivitas tipe lambat merupakan respon yang diperantarai limfosit T. Sehingga gejala yang ditimbulkan karena sekresi limfokin lebih parah dibanding karena sekresi histamin.

Tabel 2.3 Perbandingan Alergi Tipe Lambat dan Tipe Cepat (Fox, 2003)

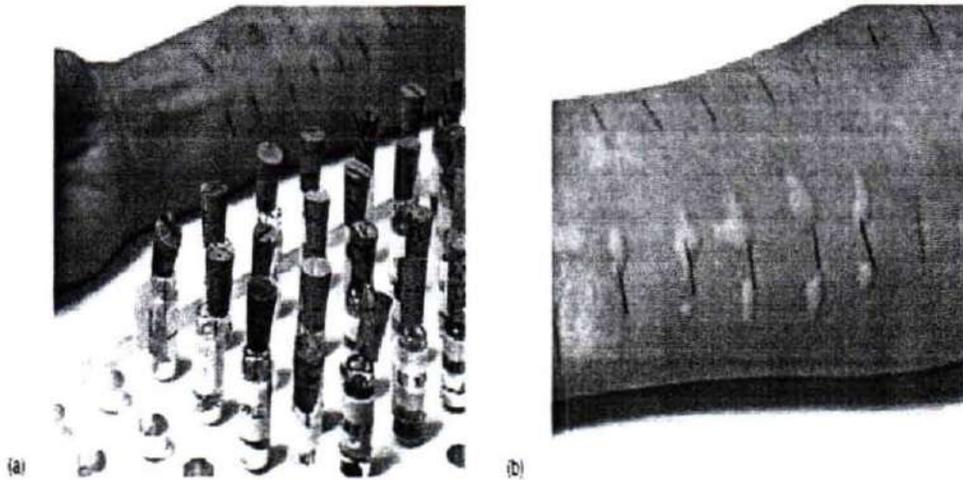
| Characteristic | Immediate Reaction | Delayed Reaction |
|----------------------------------|---|---|
| Time for onset of symptoms | Within several minutes | Within 1 to 3 days |
| Lymphocytes involved | B cells | T cells |
| Immune effector | IgE antibodies | Cell-mediated immunity |
| Allergies most commonly produced | Hay fever, asthma, and most other allergic conditions | Contact dermatitis (such as to poison ivy and poison oak) |
| Therapy | Antihistamines and adrenergic drugs | Corticosteroids (such as cortisone) |

Satu contoh yang perlu diketahui sebagai reaksi hipersensitivitas tipe lambat adalah dermatitis kontak, yang disebabkan oleh *poison ivy*, *poison oak* dan *poison sumac*. Tes kulit untuk tuberkulosis, seperti tes Mantoux, juga didasarkan dari reaksi hipersensitivitas tipe lambat. Jika seseorang terpapar oleh basil tuberkulosa, konsekuensinya akan mengalami kloning dari sel T, reaksi kulit akan terlihat dalam beberapa hari setelah antigen tuberkel diinjeksikan ke bawah kulit.

2.7.6 Pemeriksaan alergi

Salah satu cara pemeriksaan alergi adalah tes alergi pada kulit. Tes ini pun ada bermacam-macam caranya yaitu dengan *Patch's test*, *Prick's test* dan *intradermal test*. Akan tetapi yang akan dibahas disini adalah yang terakhir yaitu *intradermal test*. Tes intradermal ini hanya dikerjakan pada lengan (Gambar 2.12). Ekstrak alergen tidak boleh toksik dan bebas dari kontaminan mikroba. Jarum yang dipakai adalah spuit tuberculin dengan jarum nomor 27

dan volume yang diinjeksikan tergantung mekanisme efektor alergen yang telah diketahui.



Gambar 2.12 Tes kulit untuk alergi (Fox, 2003).

Volume yang direkomendasikan untuk tes intradermal adalah sebanyak 0,005 sampai dengan 0,02 ml, tetapi yang biasa dipakai adalah 0,01 ml. Volume yang berlebih tidak diperlukan dan dapat membingungkan hasil. Pada banyak kasus, tes intradermal dilakukan hanya pada alergen yang memberi respon negatif atau paling banyak positif 1, karena tes intradermal ini 1000 kali lebih sensitif. Reaksinya dapat dilihat dalam 20 menit. Interpretasi hasil dapat dilihat pada tabel 2.4. (Terr, 1997).

Tabel 2.4 Interpretasi Hasil Tes Kulit Intradermal (Terr, 1997)

| Jenis Tes | Reaksi | Penampakan |
|-----------------|---------|--|
| Tes intradermal | Negatif | Sama dengan kontrol |
| | 1+ | Indurasi dua kali lebih besar dari kontrol, diameter eritema < 20 mm |
| | 2+ | Indurasi dua kali lebih besar dari kontrol, diameter eritema > 20 mm |
| | 3+ | Indurasi tiga kali lebih besar dari kontrol, eritema + |
| | 4+ | Indurasi dengan pseudopods, eritema + |

2.8 Hubungan Latihan (*Exercise*) Dengan Alergi

Pada kondisi stres seringkali ditemukan adanya peningkatan insiden alergi pada individu, bahkan pada individu yang tidak memiliki riwayat alergi sekalipun. Parsons and Mastronade (2005) mengatakan bahwa *exercise-induced bronchoconstriction* (EIB) dialami oleh 10% subyek yang tidak memiliki riwayat alergi maupun asma.

Telah diketahui bahwa beberapa episode dari latihan fisik dapat mempengaruhi tipe dan jumlah sel darah putih yang beredar di sirkulasi termasuk eosinofil (Nernet *et al*, 2004). Seseorang yang melakukan latihan fisik dapat mengalami peningkatan resistensi terhadap infeksi saluran nafas, dan meningkatkan insiden kekambuhan penyakit alergi (Pedersen and Hoffman-Goetz, 2000).

Penelitian Susan *et al*. (2005) menunjukkan bahwa stresor latihan fisik dapat meningkatkan jumlah eosinofil darah yang akan bermigrasi ke jaringan

sehingga menimbulkan reaksi alergi. Kenaikan jumlah eosinofil seringkali dihubungkan dengan terjadinya reaksi alergi.

Hans Selye juga menyatakan bahwa alergi merupakan salah satu penyakit yang diinduksi oleh stres (Bullock and Henze, 2000), seperti yang terlihat pada tabel 2.5. di bawah ini.

Tabel 2.5 Penyakit-penyakit Yang Diinduksi Oleh Stres (Bullock and Henze, 2000)

| No. | Penyakit-penyakit yang diinduksi oleh stres |
|-----|---|
| 1. | Hipertensi |
| 2. | Penyakit jantung dan pembuluh darah |
| 3. | Penyakit ginjal |
| 4. | Eclampsia |
| 5. | Arthritis |
| 6. | Inflamasi pada kulit dan mata |
| 7. | Infeksi |
| 8. | Penyakit alergi dan hipersensitivitas |
| 9. | Penyakit saraf dan gangguan mental |
| 10. | Kelainan seksual |
| 11. | Penyakit saluran pencernaan |
| 12. | Penyakit metabolik |
| 13. | Kanker |
| 14. | Defisiensi imun |

2.8.1 Prevalensi penyakit alergi akibat *exercise*

Prevalensi terjadinya *bronchospasm* yang berhubungan dengan *exercise* pada atlet sekitar 11 sampai 50% dan dapat meningkat sampai 90% pada atlet yang menderita asma (Parsons and Mastronade, 2005).

Rundell dan Jenkinson menyatakan bahwa prevalensi *exercise induced asthma* (EIA) pada atlet terlatih berkisar antara 10-50%, tergantung dari cabang olahraganya. Helenius dan Haahtela menyatakan bahwa olahraga renang adalah salah satu dari dua olahraga yang mempunyai angka prevalensi tertinggi untuk terjadinya asma (Whyte, 2006).

2.8.2 Patofisiologi *exercise induced asthma* (EIA) dan *exercise induced bronchoconstriction* (EIB)

Kebanyakan orang dengan penyakit asma akan lebih menderita berada di lingkungan yang dingin. Hal ini terjadi karena pada lingkungan yang berudara dingin lebih kering daripada udara yang panas. Anderson *et al* telah menyampaikan bahwa terdapat hubungan antara dosis dan respons antara kehilangan air dari saluran nafas dan keparahan dari EIB, sehingga dapat disimpulkan bahwa udara yang kering, baik pada suhu dingin maupun panas, lebih poten sebagai pencetus timbulnya EIB daripada udara yang lembab.

Sehingga konsensus yang terbaru menyimpulkan bahwa faktor pencetus EIA adalah pengeringan dari saluran nafas. Ventilasi yang tinggi yang terjadi pada saat *exercise* dipikirkan sebagai faktor yang menginduksi respons berantai yang dimulai dengan kehilangan air dari cairan permukaan saluran nafas dan perubahan konsekuensial pada potensial osmotik dari sel-sel di saluran nafas.

Pada saat *exercise* berhenti, kehilangan air dari saluran nafas berhenti dan kembali normal, dan terdapat pemulihan dari potensial osmotik pada sel-sel di saluran nafas. Dan keadaan tersebut berkaitan dengan pelepasan mediator-mediator inflamasi dari sel yang terlibat, yang akan memicu konstriksi dari otot-otot saluran nafas, sehingga menyebabkan *bronchoconstriction* (Whyte, 2006).

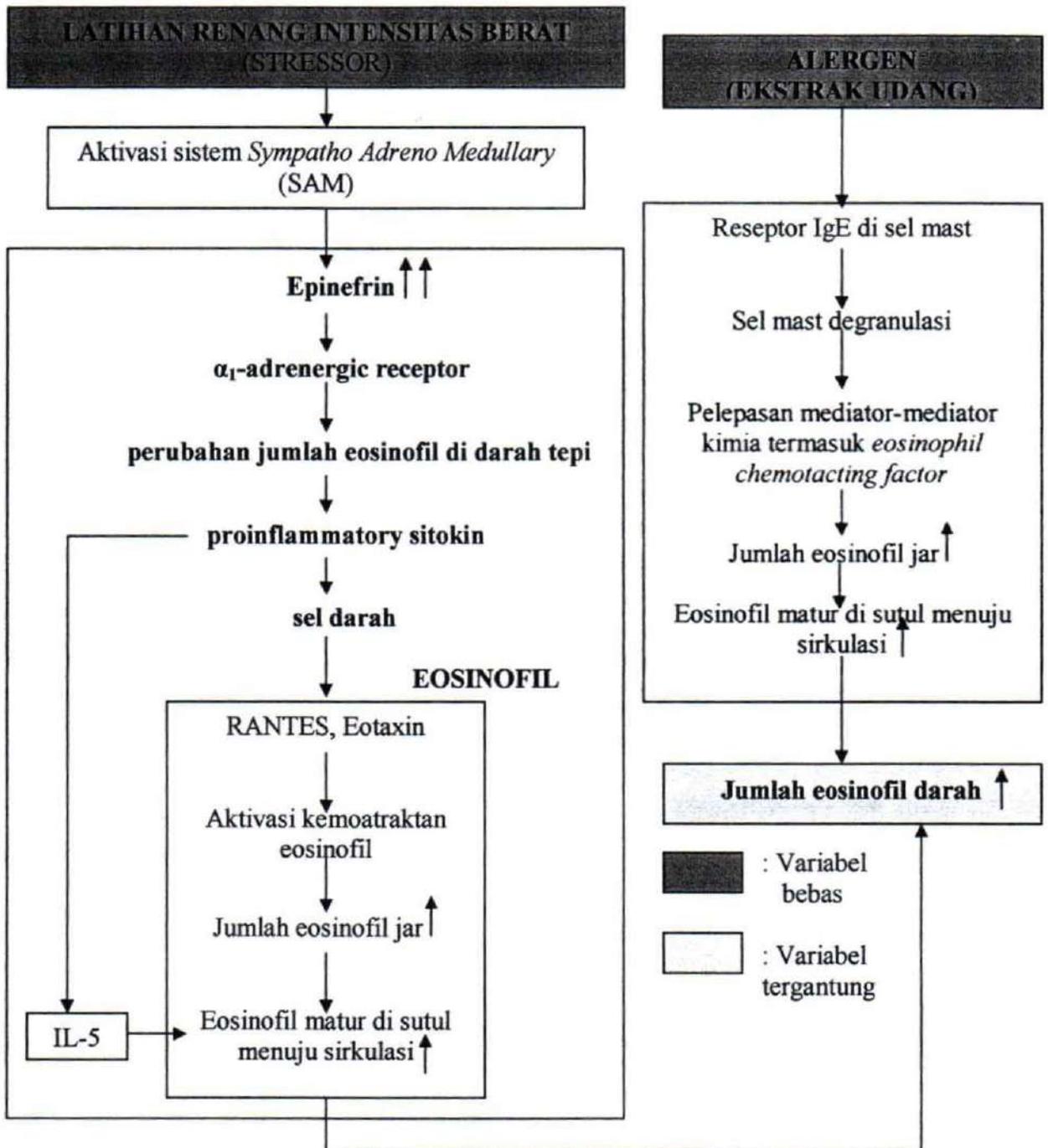
Puncak terjadinya respons EIA dan EIB biasanya sekitar 10-15 menit setelah *exercise* berhenti. Dan saat ini telah disepakati bahwa respon *bronchoconstriction* tidak terjadi sampai berakhirnya *exercise* (Whyte, 2006).

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian





3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Pada saat stress salah satu sistem neuroendokrin yang diaktifkan adalah sistem *sympathetic adreno-medullary* (SAM) yang akan menghasilkan epinefrin (E), dopamine serta norepinefrin (NE). Pada saat melakukan latihan renang intensitas berat maka akan terjadi *distress* karena latihan dengan intensitas berat akan mengakibatkan sistem SAM juga turut aktif sehingga kadar epinefrin dalam darah akan sangat meningkat. Dengan kadar epinefrin yang tinggi maka pengikatan reseptor α_1 di sumsum tulang akan meningkat sehingga akan meningkatkan produksi *pluripoten stem cell* yang kemudian akan meningkatkan jumlah *proinflammatory cytokine* termasuk IL-5 yang merupakan perangsang produksi eosinofil, sehingga produksi eosinofil akan meningkat.

Jika ada paparan alergen dari luar tubuh setelah latihan renang intensitas berat, maka akan mempengaruhi jumlah eosinofil yang beredar dalam sirkulasi karena eosinofil matur yang berada di sumsum tulang akan ditarik menuju sirkulasi. Alergen yang masuk akan diikat oleh reseptor IgE di sel mast sehingga mengakibatkan degranulasi dari sel mast yang selanjutnya akan melepaskan mediator-mediator kimia termasuk *eosinophil chemotacting factor* (ECF) yang akan menarik eosinofil ke jaringan tempat masuknya alergen. Kemudian eosinofil matur di sumsum tulang akan terdorong menuju sirkulasi oleh adanya produksi eosinofil yang diinduksi IL-5 sehingga jumlah eosinofil darah akan meningkat untuk mengganti eosinofil yang menuju ke jaringan.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka konseptual yang telah diuraikan sebelumnya, maka hipotesis penelitian adalah sebagai berikut :

1. Latihan renang intensitas berat meningkatkan jumlah eosinofil darah tikus putih.
2. Injeksi ekstrak udang intradermal meningkatkan jumlah eosinofil darah tikus putih.
3. Terdapat perbedaan peningkatan jumlah eosinofil darah akibat injeksi ekstrak udang intradermal dan latihan renang intensitas berat.

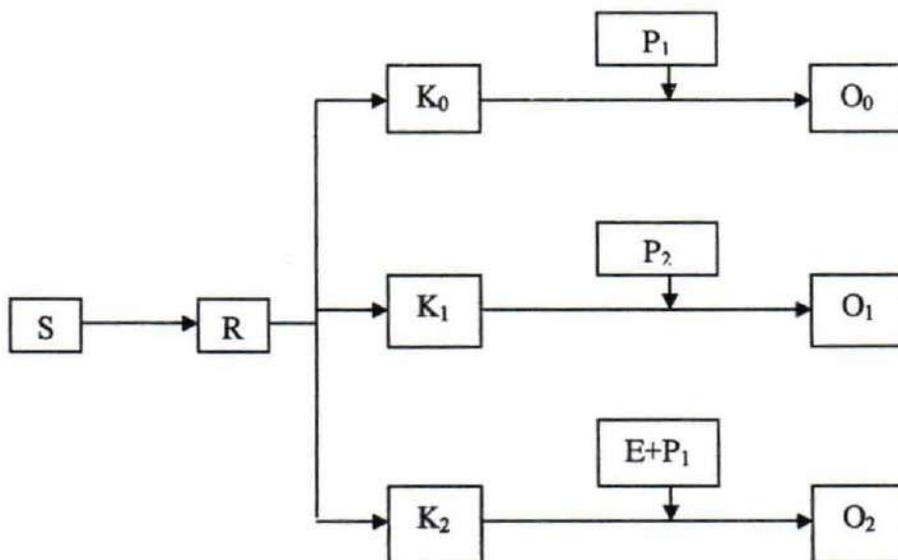
BAB 4
METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium. Penelitian ini dirancang untuk memenuhi tujuan penelitian yang hendak membandingkan jumlah eosinofil darah tikus putih akibat injeksi alergen intradermal dan latihan renang intensitas berat. Terdapat satu kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan dari sampel yang dipilih secara acak. Pengamatan dilakukan setelah diberikan perlakuan pada semua kelompok, sehingga rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design* (Zainuddin, 2000).



Keterangan :

- S : sampel
- R : randomisasi
- K₀ : Kelompok kontrol.
- K₁ : Kelompok perlakuan 1.
- K₂ : Kelompok perlakuan 2.
- E : Latihan renang intensitas berat.
- P₁ : Perlakuan 1 (pemberian injeksi intradermal cocofiltra, satu kali).
- P₂ : Perlakuan 2 (pemberian injeksi intradermal alergen, satu kali).
- O₀ : Observasi 1 (pengambilan data kontrol, dilakukan 100 menit setelah injeksi intradermal cocofiltra)
- O₁ : Observasi 2 (pengambilan data perlakuan 1, dilakukan 100 menit setelah injeksi intradermal alergen).
- O₂ : Observasi 3 (pengambilan data perlakuan 2, dilakukan 100 menit setelah injeksi intradermal cocofiltra).

4.2 Populasi, Sampel, Teknik Pengambilan Sampel dan Besar Sampel

4.2.1 Sampel

Populasi sampel dalam penelitian menggunakan *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jenis kelamin jantan dengan berat badan 150-250 gram, berumur lebih kurang 3 bulan dengan kondisi sehat fisik. Sampel dibagi menjadi satu kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan.

4.2.2 Teknik pengambilan sampel

Pengambilan sampel dan pembagian kelompok dilakukan dengan cara *simple random sampling* (Pudjirahardjo dkk, 1983).

4.2.3 Besar sampel

Besar sampel ditentukan dengan rumus Higgins and Kleinbaum (1985):

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

Dari perhitungan diperoleh besar sampel sebanyak 7 ekor sampel tiap kelompok perlakuan (3 kelompok), sehingga besar sampel secara keseluruhan adalah 21 ekor sampel. Perhitungan besar sampel selengkapnya terdapat pada lampiran 1 halaman 85.

4.3 Variabel Penelitian

4.4.4 Variabel bebas (*independen*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah :

1. Latihan renang intensitas berat.
2. Alergen (ekstrak udang).

4.4.5 Variabel tergantung (*dependen*)

Variabel tergantung disini meliputi :

- Jumlah eosinofil darah.

4.4.6 Variabel moderator

- Berat badan hewan coba.

4.4.7 Variabel kendali

Variabel kendali meliputi :

1. Jenis hewan coba
2. Jenis kelamin hewan coba.
3. Umur hewan coba.
4. Kesehatan fisik hewan coba
5. Kandang hewan coba.

4.4 Definisi Operasional Variabel

4.4.1 Latihan renang intensitas berat

Latihan dilakukan dengan merenangkan tikus dalam bak berisi air setinggi 50 cm dengan menggunakan beban seberat 9% dari berat badan hewan coba (tikus) yang diikatkan dari ujung ekor (Bompa, 1994) selama lebih kurang 80% kemampuan renang maksimal (Fox, 1999).

Cara mencari kemampuan renang maksimal tikus ialah tikus direnangkan dengan menggunakan beban seberat 9% berat badan (Bompa, 1994) sampai hampir tenggelam (Jawi dkk., 2005) lalu dicatat waktu lama berenangnya. Kemudian tikus diistirahatkan minimal 3 jam untuk pemulihan (Jawi dkk., 2005) kemudian direnangkan lagi dengan menggunakan beban seberat 9% berat badan selama 80% waktu tercapainya kemampuan renang maksimal (Fox, 1999).

4.4.2 Pemberian alergen

Yang dimaksud dengan pemberian alergen adalah pemberian injeksi intradermal alergen dalam hal ini adalah ekstrak udang yang biasa dipakai

untuk melakukan tes kulit di poli asma RSUD Dr. Soetomo yang dibuat oleh depo farmasi RSUD Dr. Soetomo. Injeksi intradermal alergen dilakukan satu kali, untuk pengambilan data perlakuan pada K_1 .

Volume injeksi intradermal yang diberikan yaitu sebanyak 0,01 ml (Terr, 1997).

4.4.3 Pemberian plasebo

Yang dimaksud dengan pemberian plasebo adalah pemberian injeksi intradermal cocofiltra dimana cocofiltra merupakan bahan pelarut dalam pembuatan ekstrak udang yang biasa dipakai untuk melakukan tes kulit di poli asma RSUD Dr. Soetomo yang dibuat oleh depo farmasi RSUD Dr. Soetomo. Injeksi intradermal cocofiltra dilakukan masing-masing satu kali, untuk pengambilan data perlakuan pada K_0 dan K_2 .

Volume injeksi intradermal yang diberikan sama dengan volume injeksi intradermal alergen yaitu sebanyak 0,01 ml (Terr, 1997).

4.4.4 Eosinofil (jumlah eosinofil darah)

Eosinofil adalah salah satu sel granulosit yang dibentuk di sumsum tulang dan merupakan bagian dari lekosit yang mempunyai inti dua lobus dan sitoplasmanya banyak mengandung granul-granul yang eosinofilik yang dapat berwarna merah oranye dengan eosin dalam pewarnaan Wright-Giemsa (Beutler *et al*, 1990).

Jumlah eosinofil normal pada manusia lebih kurang 0-450 eosinofil/ mm^3 pada pemeriksaan hapusan darah tepi (Sonnenwirth and Jarett, 1981). Sedangkan jumlah eosinofil darah tikus lebih kurang 0-8 eosinofil/ mm^3 (Kusumawati, 2003).

4.4.5 Kesehatan fisik hewan coba

Kesehatan fisik hewan coba, berbadan sehat dengan ciri-ciri (Farris and Griffith, 1962) :

1. Bermata jernih.
2. Bulu mengkilat.
3. Gerakan aktif / lincah.
4. *Feces* baik / tidak lembek.
5. Berat badan tidak turun lebih dari 10% selama proses aklimatisasi.

4.4.6 Pemeliharaan dan perawatan hewan coba

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di sebuah kandang dengan ukuran 20 x 25 cm dimana masing-masing kandang berisi 1 ekor hewan coba. Kandang dibuat dari bak plastik yang ditutup dengan anyaman kawat serta beralas sekam. Setiap hari sekam diganti untuk menjaga kebersihan kandang. Makanan yang digunakan adalah makanan hewan jenis Pokphand P3 CP 524-2 dan diberi minum Aqua.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.6.4 Bahan Penelitian

A. Hewan Coba

Menggunakan *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jenis kelamin jantan dengan berat badan 150-250 gram, berumur lebih kurang 3 bulan dengan kondisi sehat fisik dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.

B. Bahan untuk Perlakuan

Bahan untuk perlakuan adalah :

- a. Alergen berupa ekstrak udang yang biasa dipakai untuk melakukan tes kulit di poli asma RSUD Dr. Soetomo. Sediaan alergen dalam bentuk vial sepuluh mililiter dengan konsentrasi 2 mg/ml. Alergen ekstrak udang yang digunakan adalah produksi dari Depo Farmasi RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- b. Cocofiltra dalam bentuk larutan 10 ml setiap flakon. Larutan cocofiltra ini merupakan pelarut dari ekstrak udang yang digunakan sebagai alergen dalam penelitian ini. Larutan cocofiltra yang digunakan adalah produksi Depo Farmasi RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

C. Bahan untuk Pemeriksaan

Bahan untuk pemeriksaan adalah :

- Pemeriksaan jumlah Eosinofil darah (menggunakan alat Advia 120 produksi Bayer yang menggunakan prinsip pemeriksaan secara *flowcytometri* yang terdapat di laboratorium klinik Prodia Surabaya).

Reagen :

- EDTA

4.6.5 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Kandang berukuran 20 x 25 cm.
2. Tempat makanan (pellet).
3. Tempat minum untuk tikus.
4. Timbangan torbal (*Thorsion Balance*) untuk berat badan tikus.
5. Lempengan logam untuk alas pembedahan tikus.

6. Benang untuk pengikat beban.
7. Klip kertas untuk beban saat berenang.
8. Alat pembedahan tikus berupa pisau, gunting dan pinset.
9. Tabung reaksi 5 ml.
10. Spuit tiga mililiter untuk mengambil sampel darah.
11. Spuit satu mililiter untuk injeksi obat secara intradermal.
12. *Stopwatch*.
13. Tissue.
14. Kertas label.
15. Advia 120 produksi Bayer yang menggunakan prinsip pemeriksaan secara *flowcytometri*.

4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

4.6.1 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

4.6.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan selama satu minggu yaitu pada bulan September 2007.

4.6.3 Tempat Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia, Jl. Diponegoro 107 Surabaya.

4.7 Pelaksanaan Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba selama tujuh hari terhadap makanan serta hawa di dalam kondisi laboratorium.

4.7.2 Pembagian kelompok hewan coba

Pembagian kelompok hewan coba dilakukan secara acak dan terdiri dari tiga kelompok yaitu :

1. K_0 = Kelompok kontrol (Injeksi cocofiltra intradermal, satu kali, data 100 menit setelah injeksi cocofiltra intradermal).
2. K_1 = Kelompok perlakuan 1 (Injeksi alergen intradermal, satu kali, data 100 menit setelah injeksi alergen intradermal).
3. K_2 = Kelompok perlakuan 2 (latihan renang intensitas berat dan segera setelah selesai diinjeksi cocofiltra intradermal, satu kali, data 100 menit setelah injeksi cocofiltra intradermal).

4.7.3 Penimbangan berat badan

Penimbangan berat badan dilakukan satu kali sebelum perlakuan pada semua kelompok. Hewan coba ditimbang dengan menggunakan timbangan Torbal dalam satuan gram dengan ketelitian satu angka dibelakang koma. Penimbangan ditujukan untuk homogenitas berat badan tikus.

4.7.4 Pengambilan data kontrol perlakuan

Pengambilan data kontrol perlakuan dilakukan pada kelompok kontrol (K_0) dilakukan 100 menit setelah pelaksanaan perlakuan.

4.7.5 Pelaksanaan perlakuan

Injeksi intradermal alergen diberikan satu kali untuk K₁. Dosis pemberian injeksi intradermal alergen adalah 0,01 ml per kali injeksi (Terr,1997).

Sedangkan pemberian injeksi intradermal cocofiltra dilakukan dua kali masing-masing untuk K₀ dan K₂. Adapun volume cocofiltra yang diinjeksikan secara intradermal adalah sebanyak 0,01ml per kali injeksi (Terr, 1997).

Cara melakukan injeksi intradermal adalah sebagai berikut (Kusumawati, 2003) :

1. Obat disiapkan dalam spuit 1 ml, sesuai dengan dosis obat yang akan diberikan.
2. Kulit punggung tikus dipegang dengan satu tangan sementara tangan yang lain memegang jarum.
3. Jarum ditusukkan hati-hati dibawah kulit beberapa milimeter saja dengan membentuk sudut 15° – 20° dengan kulit, tetapi bila tiba-tiba terasa ringan menandakan bahwa jarum sudah mencapai subkutan sehingga harus ditarik kembali.
4. Injeksi dilakukan sesuai dengan dosis pemberian.
5. Memeriksa terjadinya benjolan (indurasi) di kulit yang menunjukkan bahwa injeksi benar-benar masuk pada lapisan yang dimaksud (intradermal).

Pemberian injeksi intradermal ini dapat dilakukan pada hampir semua bagian kulit tubuh tikus, tetapi dianjurkan dilakukan pada daerah-daerah

yang kulitnya tebal. Adapun alur daripada penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 10 halaman 96.

4.7.6 Persyaratan etik

Implikasi etik pada tikus putih sebagai hewan coba mengikuti *animals ethic*. Hal yang perlu dilaksanakan sesuai etik antara lain perawatan tikus putih dalam kandang yaitu 1 kandang 1 ekor, pemberian makan minum, aliran udara ke dalam ruang kandang, perlakuan saat penelitian, pengambilan unit analisis penelitian dan pemusnahannya. Penelitian ini sudah lulus uji kelaikan etik oleh Tim dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya (Sertifikat ada pada lampiran 13 halaman 105).

4.7.7 Pembiusan

Pembiusan dilakukan dengan menggunakan isofluran. Tikus dimasukkan ke dalam wadah kaca dan ditutup dengan kasa, kemudian larutan isofluran diteteskan ke dalam wadah tersebut. Tikus diangkat dari wadahnya jika sudah tidak bergerak lagi (kira-kira $\frac{1}{2}$ -1 menit setelah isofluran diteteskan). Kemudian diletakkan di papan bedah untuk pengambilan darah intrakardial.

4.7.8 Prosedur pengambilan darah

Darah tikus diambil setelah dilakukan pembiusan yang dilakukan dengan pengambilan langsung dari jantung sebanyak ± 2 ml.

Berikut adalah cara pengambilan darah pada tikus (Farris, 1962) :

1. Tikus yang telah dibius diletakkan pada lempeng logam untuk dilakukan pembedahan.

2. Pembedahan dilakukan dengan alat-alat bedah yang dimulai dengan membuka kulit sampai otot dengan gunting mulai daerah epigastrium sampai nampak jantung tikus.
3. Darah diambil sebanyak ± 2 ml dari ventrikel dengan menggunakan spuit 3 ml untuk dilakukan pemeriksaan.
4. Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi EDTA, kemudian tabung digoyang-goyangkan supaya darah tercampur homogen dengan EDTA.
5. Tikus selanjutnya dikorbankan dengan cara *dislokasi cervical*.

4.7.9 Pemeriksaan jumlah eosinofil

Darah yang telah dicampur dengan EDTA dimasukkan ke dalam alat Advia 120 dengan prinsip pemeriksaan secara *flowcytometri* yang kemudian akan menghitung jumlah eosinofil yang terdapat dalam sampel pemeriksaan.

4.8 Analisis data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini dengan program SPSS untuk *Windows XP* yang meliputi analisis statistik sebagai berikut :

1. **Uji statistik deskriptif** untuk mengetahui karakteristik data hasil pengukuran variabel sebelum dan setelah perlakuan.
2. **Uji normalitas distribusi** untuk mengetahui apakah distribusi data yang diperoleh tidak berbeda dengan distribusi data normal. Uji normalitas dilakukan dengan metode non parametrik.
3. **Uji homogenitas sampel** untuk mengetahui perbedaan karakteristik dari sampel yang akan diberikan perlakuan. Pengujian ini perlu dilakukan

untuk memenuhi prasyarat uji lanjutan yang digunakan dalam analisis parametrik atau non parametrik.

4. **Uji Anova** untuk membandingkan respon perubahan variabel tergantung antara kelompok perlakuan dan kontrol dalam periode waktu pengamatan yang sama.

BAB 5
ANALISIS HASIL PENELITIAN

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

Data yang didapat dari hasil penelitian berupa jumlah eosinofil dari tiga kelompok perlakuan, dapat dilihat pada lampiran 4 halaman 90.

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

5.2.1 Hasil analisis deskriptif

Hasil analisis deskriptif variabel tergantung dapat dilihat pada tabel 5.1 dibawah ini:

Tabel 5.1 Nilai rerata dan SD variabel tergantung pada tiap kelompok

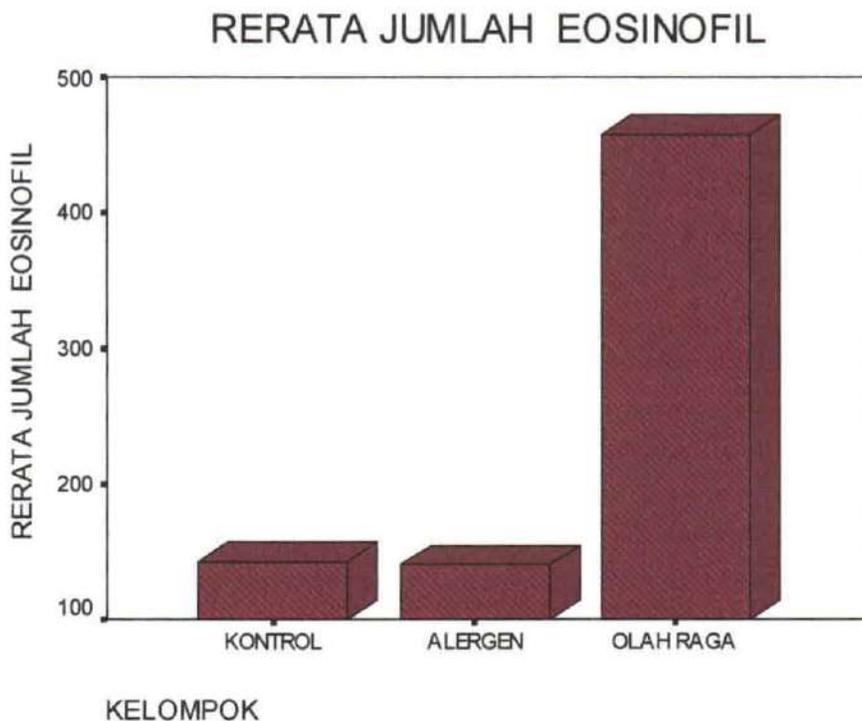
| Kelompok | | Variabel |
|----------------|--------|------------------------------|
| | | Jumlah Eosinofil (/ μ L) |
| K ₀ | Rerata | 142,8571 |
| | SD | 53,4522 |
| K ₁ | Rerata | 142,8571 |
| | SD | 78,6796 |
| K ₂ | Rerata | 457,1429 |
| | SD | 299,2053 |

Keterangan :

- **K₀** = injeksi cocofiltra intradermal 0,01 cc (7 ekor)
- **K₁** = injeksi alergen intradermal 0,01 cc (7 Ekor)

- **K₂ = Latihan renang dengan beban 9% BB selama 80% kapasitas maksimal setelah selesai segera diinjeksi intradermal cocofiltra 0,01 cc (7 Ekor)**

Data analisis deskriptif selengkapnya terdapat dalam lampiran 5 halaman 90. Data yang diperoleh dari hasil penelitian tersebut selanjutnya dideskripsikan dan diuji dengan taraf signifikansi 95 % ($p < 0,05$).



Gambar 5.1 Diagram batang jumlah eosinofil menurut kelompok perlakuan

5.2.2 Hasil uji normalitas distribusi

Sebelum melakukan analisis data hasil penelitian dengan uji ANOVA, maka data diuji normalitas distribusinya dengan uji Kolmogorov-Smirnov seperti pada tabel di bawah ini :

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Distribusi Menurut Kolmogorof-Smirnov

| Kelompok | Statistik | Jumlah Eosinofil |
|-----------|-----------------|------------------|
| Kontrol | KS Z | 0,953 |
| | Sig. (2-tailed) | 0,324 |
| Alergen | KS Z | 1,115 |
| | Sig. (2-tailed) | 0,167 |
| Olah raga | KS Z | 0,423 |
| | Sig. (2-tailed) | 0,954 |

Hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov test* menunjukkan data seluruh kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil uji normalitas distribusi selengkapnya pada lampiran 6 halaman 91.

5.2.3 Hasil uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui perbedaan karakteristik dari sampel yang akan diberikan perlakuan. Pengujian ini perlu dilakukan untuk memenuhi prasyarat uji lanjutan yang digunakan dalam analisis parametrik atau non parametrik.

Adapun hasil uji homogenitas dapat dilihat pada rangkuman anava satu arah berikut :

Tabel 5.3 Rangkuman Anava satu arah untuk variabel berat badan

| Sumber | Jumlah kuadrat | Derajat bebas | Rata-rata kuadrat | F | Probabilitas |
|----------|----------------|---------------|-------------------|-------|--------------|
| Kelompok | 796,235 | 3 | 265,412 | 0,231 | 0,874 |
| Dalam | 29935,232 | 26 | 1151,355 | | |

Pada tabel 5.3 ditunjukkan bahwa $p > 0.05$, artinya keempat kelompok mempunyai berat badan yang homogen. Hasil uji homogenitas selengkapnya pada lampiran 7 halaman 93.

5.2.4 Hasil Uji ANOVA

Analisis atau uji ANOVA digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan efek olahraga dan alergen terhadap jumlah eosinofil pada masing-masing kelompok perlakuan secara terpisah maupun secara bersama-sama.

Tabel 5.4 Rangkuman ANOVA univariat

| Variabel | F | Sig. |
|------------------|-----------|-------|
| Jumlah Eosinofil | 177066,91 | 0,001 |

Tabel 5.4 memperlihatkan hasil analisis univariat dimana didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar tiga kelompok perlakuan dengan variabel tergantung jumlah eosinofil. Hasil uji ANOVA selengkapnya pada lampiran 8 halaman 94.

Tabel 5.5 Hasil uji BNT

(Beda (D) dan P (probabilitas antar pasangan))

| Variabel | Kelompok | Alergen | Olah raga |
|------------------|----------|---------------------|------------------------|
| Jumlah eosinofil | Kontrol | D= 0,000 P=1,000 | D= -314,286 P=0,001 |
| | Alergen | | D= -314,286 P=0,001 |

Selanjutnya hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau LSD dapat dilihat pada tabel 5.5 yang menunjukkan bahwa efek olah raga meningkatkan jumlah eosinofil ($p < 0,05$) sedangkan efek alergen tidak meningkatkan jumlah eosinofil ($p > 0,05$). Hasil uji BNT selengkapnya pada lampiran 8 halaman 94.

5.2.5 Hasil Uji ANAKOVA

Hasil uji ANAKOVA univariat menunjukkan bahwa variabel moderator berat badan tidak berpengaruh pada variabel tergantung. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil uji ANAKOVA univariat

| Sumber | Variabel tergantung | F | Sig. |
|-------------|---------------------|-------|-------|
| Berat Badan | Jumlah eosinofil | 0,157 | 0,696 |

Dari tabel 5.6 diatas dapat disimpulkan bahwa dari uji ANAKOVA univariat berat badan tidak berpengaruh pada jumlah eosinofil ($p > 0,05$). Hasil uji ANAKOVA untuk berat badan tikus selengkapnya pada lampiran 9 halaman 95.

5.3 Efek injeksi ekstrak udang intradermal terhadap jumlah eosinofil

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data tentang efek injeksi alergen intradermal terhadap jumlah eosinofil mempunyai distribusi yang normal (menurut uji Kolmogorov-Smirnov ; $p > 0,05$), lihat tabel 5.2.

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa variabel moderator berat badan pada keempat kelompok mempunyai berat badan yang homogen ($p>0,05$) antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.3.

Hasil analisis univariat menunjukkan bahwa variabel tergantung jumlah eosinofil menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.4.

Selanjutnya hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau LSD dapat dilihat pada tabel 5.5 yang menunjukkan bahwa efek alergen tidak meningkatkan jumlah eosinofil ($p>0,05$).

Hasil uji ANAKOVA univariat menunjukkan bahwa variabel moderator berat badan tidak berpengaruh pada variabel tergantung ($p>0,05$). Hasil ini dapat dilihat pada tabel 5.6.

5.4 Efek latihan renang intensitas berat (olahraga) terhadap jumlah eosinofil

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data tentang efek latihan renang intensitas berat (olahraga) terhadap jumlah eosinofil mempunyai distribusi yang normal (menurut uji Kolmogorov-Smirnov; $p>0,05$), lihat tabel 5.2.

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa variabel moderator berat badan pada keempat kelompok mempunyai berat badan yang homogen ($p>0,05$) antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.3.

Hasil analisis univariat menunjukkan bahwa variabel tergantung jumlah eosinofil menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.4.

Selanjutnya hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau LSD dapat dilihat pada tabel 5.5 yang menunjukkan bahwa efek olahraga meningkatkan jumlah eosinofil ($p < 0,05$).

Hasil uji ANAKOVA univariat menunjukkan bahwa variabel moderator berat badan tidak berpengaruh pada variabel tergantung ($p > 0,05$). Hasil ini dapat dilihat pada tabel 5.6.

BAB 6
PEMBAHASAN

B A B 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan efek pemberian ekstrak udang intradermal dan latihan renang intensitas berat (olahraga) terhadap jumlah eosinofil pada tikus putih (*Rattus Norvegicus* galur *Wistar* jantan). Penelitian ini bersifat eksperimental murni karena ada kelompok kontrol terhadap perlakuan yang diberikan dan ada intervensi yang diberikan yaitu pemberian alergen dan latihan renang intensitas berat (Zainuddin, 2000). Rancangan penelitian menggunakan *posttest only control group design*. Pengambilan unit analisis darah untuk pemeriksaan laboratorium dengan alat Advia 120 yang menggunakan prinsip pemeriksaan secara *flowcytometri* membutuhkan 2 ml darah sehingga sampel penelitian harus dikorbankan.

Pengambilan sampel tikus pada usia dewasa 3 – 3,5 bulan, karena jumlah eosinofil pada tikus putih stabil pada usia dewasa. Jenis kelamin jantan dipilih selain untuk homogenitas sampel, juga dikarenakan pada keadaan stress terjadi perubahan rasio estrogen androgen yang menyebabkan efek yang berbeda antara pria dan wanita (Gunawan dan Sumadiono, 2007). Berat badan tikus antara 180-250 gram karena rata-rata berat badan tikus dewasa antara 175-250 gram. Kondisi tikus sehat ditujukan untuk mendapatkan *eosinopoesis* yang normal.

Obat yang digunakan adalah alergen yang berasal dari ekstrak udang yang didapatkan dari unit farmasi RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan cocofiltera yang merupakan pelarut dari alergen dan digunakan sebagai plasebo. Alasan pemilihan

ekstrak udang sebagai alergen adalah bahwa secara epidemiologis udang banyak menjadi faktor pencetus alergi.

Injeksi alergen dilakukan satu kali pada K_1 untuk merangsang peningkatan eosinofil dalam darah. Injeksi yang digunakan adalah injeksi secara intradermal. Volume alergen yang diinjeksikan sebanyak 0,01 ml. Untuk mengontrol pengaruh alergen maka ada juga kelompok yang diinjeksi dengan cocofiltra yang merupakan pelarut dari alergen yang digunakan. Kedua obat tersebut (alergen dan cocofiltra) merupakan produksi dari Depo Farmasi RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pengambilan data pada semua kelompok dilakukan 100 menit setelah injeksi sesuai dengan penelitian bahwa untuk melihat peningkatan jumlah eosinofil darah yang dapat terjadi antara 9-120 menit setelah penyuntikan (Chatterjea *et al*, 1953). Pengambilan sampel dilakukan pagi hari dikarenakan penentuan jumlah leukosit paling baik jika sampel diambil pada pagi hari (Keen *et al*, 1986).

Latihan yang diberikan adalah latihan renang yang merupakan salah satu jenis olahraga ketahanan dimana memerlukan peningkatan ventilasi dalam waktu yang cukup lama selama latihan ataupun lomba, sehingga menyebabkan pengeluaran air secara evaporasi menjadi relatif lebih banyak (Parsons and Mastronarde, 2005).

Latihan renang pada tikus banyak dipakai pada penelitian tentang pengaruh fisiologis latihan olahraga. Keuntungan dari penggunaan latihan renang pada tikus adalah tatalaksananya yang mudah dan biaya yang murah sedang kelemahannya adalah standarisasi intensitas latihan yang lebih sukar dilakukan. Pada umumnya standarisasi beban latihan renang pada tikus dinyatakan dengan berat relatif

terhadap berat badan dari beban latihan yang dipasang pada ekor (Harjanto dan Santoso KP, 2001).

Penghitungan jumlah eosinofil darah dilakukan untuk melihat pengaruh latihan renang intensitas berat dan injeksi alergen intradermal terhadap jumlah eosinofil darah. Jika terjadi peningkatan jumlah eosinofil dalam darah maka potensi terjadinya alergi akan semakin besar.

Untuk mendapatkan gambaran perubahan masing-masing variabel tergantung dilakukan analisis deskriptif pada seluruh kelompok. 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 menunjukkan gambaran berdistribusi normal ($p > 0,05$, lampiran 6 halaman 88).

Pada penelitian ini diperiksa jumlah eosinofil darah akibat adanya injeksi alergen secara intradermal dan latihan renang intensitas berat. Adapun hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar tiga kelompok perlakuan dengan variabel tergantung jumlah eosinofil.

Pengaruh latihan renang intensitas berat terhadap jumlah eosinofil pada penelitian ini terlihat meningkat bermakna ($p = 0,001$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun kelompok alergen. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa latihan intensitas berat merupakan suatu bentuk stres fisik. Dimana pada saat stres fisik yang akut mengakibatkan sistem SAM aktif sehingga kadar epinefrin dalam darah akan sangat meningkat. Dengan kadar epinefrin yang tinggi maka pengikatan reseptor α_1 di sumsum tulang akan meningkat sehingga

akan meningkatkan produksi *pluripoten stem cell* yang kemudian akan meningkatkan jumlah *proinflammatory cytokine* termasuk IL-5 yang merupakan perangsang produksi eosinofil, sehingga produksi eosinofil akan meningkat.

Salah satu kunci respons neurohormonal terhadap latihan fisik adalah peningkatan aktivitas simpatoadrenal (Bouchard, 1993), yang mengakibatkan peningkatan sekresi hormon adrenokortikotropin (ACTH), kortisol, renin, angiotensin, aldosteron, hormon pertumbuhan (GH) dan glukagon, tetapi terjadi penurunan sekresi insulin (Viru, 1995). Pike *et al* (1997) dan Saint-Mezard *et al* (2003) menemukan bahwa rangsangan stres akut dapat meningkatkan konsentrasi plasma baik epinefrin maupun norepinefrin, peningkatan aktivitas aksis HPA dengan peningkatan β -endorfin, ACTH dan kortisol, tetapi tidak didapatkan peningkatan hormon prolaktin. Respons perubahan tersebut erat hubungannya terhadap kebutuhan proses metabolisme dan homeostasis tubuh. Sekresi katekolamin dapat menekan sistem imun (Crary *et al*, 1983). Hal tersebut berhubungan dengan redistribusi sel-sel imunokompeten yang dipengaruhi oleh epinefrin menuju sumsum tulang. Peningkatan jumlah granulosit yang disebabkan oleh epinefrin kemungkinan diperantarai oleh reseptor adrenergik α dan β dan dihambat oleh kerja kortikosteron pada reseptor steroid adrenal tipe II (Forsythe *et al*, 2004).

Sedangkan pengaruh injeksi alergen intradermal terhadap jumlah eosinofil pada penelitian ini terlihat tidak meningkat ($p=1,000$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun kelompok alergen. Hal ini bisa terjadi mungkin karena waktu pengambilan sampel darah yang mungkin kurang tepat, sehingga telah melampaui periode leukositosis. Pada saat dilakukan injeksi intradermal dari

ekstrak udang maka epinefrin akan meningkat juga karena adanya stres pada saat penyuntikan. Leukositosis yang disebabkan oleh E terjadi dalam dua fase, yaitu (1) Fase cepat, dimana terjadi terutama peningkatan netrofil dan limfosit serta didapatkan pula peningkatan eosinofil dan monosit; dan (2) Fase lambat, saat neutrofilia mendominasi gambaran darah tepi dan didapatkan limfopenia dan eosinopenia (Chatterjea *et al*, 1953). Terdapat beberapa tingkat kenaikan dari eosinofil pada penelitian Chatterjea *et al*. (1953) dan kenaikan maksimal dari eosinofil berkisar antara 9 sampai 120 menit. Akan tetapi pada studi yang dilakukan oleh Charlesworth *et al* (1995) kenaikan eosinofil pada orang normal yang diberi plasebo mencapai puncaknya antara jam ke-9 dan jam ke-10.

Pada saat alergen dimasukkan ke dalam tubuh, maka alergen tersebut akan ditangkap oleh reseptor IgE yang menempel pada sel mast dan basofil (Kuby, 2003; Abbas, 2007). Kemudian hal tersebut akan mengakibatkan sel mast dan basofil teraktivasi sehingga mengalami degranulasi dan mengeluarkan mediator-mediator kimia termasuk *Eosinophil Chemotacting Factor (ECF)*. Karena adanya *ECF* ini maka eosinofil yang berada di aliran darah akan tertarik menuju tempat terjadinya inflamasi. Setelah eosinofil yang berada di dalam darah menurun maka eosinofil matur yang berada di sumsum tulang akan bermigrasi ke peredaran darah menggantikan eosinofil yang menuju jaringan (Kuby, 2003; Abbas, 2007).

Ada dua tipe besar dari alergi, yaitu (1) hipersensitivitas tipe cepat (tipe I), yang berhubungan dengan respon abnormal dari limfosit B terhadap alergen yang mengakibatkan gejala dalam beberapa detik sampai beberapa menit, dan (2) hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV) yang merupakan akibat respon abnormal sel

T yang mengakibatkan gejala dalam 24 sampai 72 jam setelah kontak dengan alergen (Fox, 2003).

Tidak adanya efek alergen terhadap jumlah eosinofil pada penelitian ini kemungkinan karena pemilihan alergen yang kurang tepat untuk tikus putih. Alergen yang mengakibatkan hipersensitivitas tipe cepat termasuk bermacam-macam makanan, gigitan serangga dan *pollen grain*. Pemilihan alergen didasarkan bahwa pada manusia, udang atau *seafood* banyak menjadi faktor pencetus alergi. Akan tetapi karena penelitian ini dilakukan pada tikus, mungkin alergen tersebut kurang tepat, disamping itu juga tikus yang dipakai pada penelitian ini adalah tikus yang normal yang tidak dikondisikan mengalami alergi, karena tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian alergen intradermal terhadap jumlah eosinofil darah individu yang normal. Sehingga alergen yang dipakai ternyata tidak menimbulkan reaksi hipersensitivitas pada tubuh tikus atau alergen tersebut tidak dikenali sebagai alergen.

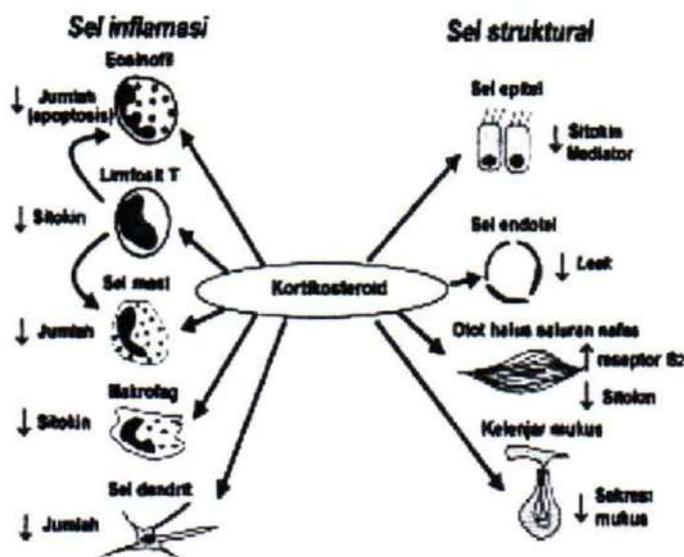
Selain itu karena tikus yang dipakai pada penelitian ini adalah tikus yang normal maka mungkin juga reaksi alergi atau peningkatan eosinofil yang diharapkan belum terjadi karena baru masuk pada tahap sensitisasi, sehingga tidak timbul reaksi hipersensitivitas tipe I. Tidak seperti antibodi IgG, IgE tidak bersirkulasi dalam darah. Karena mereka terikat pada sel mast dan basofil, yang mempunyai reseptor membran untuk antibodi ini. Saat terjadi paparan lagi dengan alergen yang sama, maka alergen akan terikat pada antibodi yang melekat pada sel mast dan basofil. Stimulasi dari sel ini akan mensekresi beberapa substansi kimia, termasuk histamin. Selama proses ini, leukosit juga dapat mensekresi

prostaglandin D dan molekul yang berhubungan disebut dengan *leukotriene*. Substansi kimia ini diproduksi untuk mengakibatkan gejala dari alergi.

Komponen yang sangat cepat berpengaruh dari hipersensitivitas tipe cepat seringkali memproses suatu reaksi fase lambat yang bertahan beberapa jam sampai beberapa hari, selama sejumlah besar lekosit, khususnya eosinofil bermigrasi ke daerah inflamasi. Kemoatraktan yang terlibat termasuk sitokin yang dilepaskan oleh sel mast dan sel T *helper* yang diaktifkan oleh alergen. Eosinofil pada daerah tersebut mensekresi mediator yang memperlama proses inflamasi dan jaringan yang terkena sehingga alergen memerlukan waktu untuk menimbulkan respon.

Selain kemungkinan-kemungkinan diatas, tidak adanya efek alergen terhadap jumlah eosinofil darah dapat juga disebabkan karena waktu dimulainya perlakuan adalah jam 08.00, dimana kadar kortisol darah mencapai puncaknya. Walaupun pada literatur dikatakan bahwa pada stres akut yang dominan berperan adalah aktivasi sistem simpato adrenal dibandingkan dengan pengeluaran kortisol, akan tetapi karena perlakuan dilakukan pada saat kortisol mencapai jumlah puncak dalam darah, maka kortisol tersebut menghambat eosinofil yang berada di sirkulasi sehingga tidak menimbulkan efek. Mediator inflamasi yang diproduksi pada penyakit alergi antara lain mediator lipid, peptida inflamasi, kemokin, sitokin dan faktor pertumbuhan. Selain itu, juga terdapat bukti bahwa sel struktural dari saluran nafas, seperti sel epitel, sel otot polos, sel endotel dan fibroblas merupakan sumber utama mediator inflamasi pada asma. Pada tingkat selular, kortikosteroid mengurangi jumlah sel inflamasi di saluran nafas, termasuk eosinofil, limfosit T, sel mast dan sel dendritik. Efek ini dicapai dengan

menghambat rekrutmen atau penarikan sel inflamasi tersebut ke saluran nafas melalui penekanan produksi mediator kemotaktik dan molekul adhesi, serta juga menghambat keberadaan (survival) sel inflamasi di saluran nafas, seperti eosinofil, limfosit T dan sel mast. Oleh karena itu, kortikosteroid mempunyai efek antiinflamasi spektrum luas, melalui inhibisi mediator inflamasi dan sel inflamasi serta sel struktural (sel epitel, endotel, otot polos saluran nafas dan kelenjar mukus), sehingga berdampak pada berkurangnya infiltrat atau aktivasi inflamasi, stabilisasi kebocoran vaskular, penurunan produksi mukus dan peningkatan respons β -adrenergik (Helmy M dan Munasir Z, 2007).



Gambar 6.1 Peran kortikosteroid sebagai antiinflamasi (Helmy M dan Munasir Z, 2007).

Karena itu perlu dilakukan penelitian secara *time series* dengan gradasi waktu untuk mengetahui pola perubahan jumlah eosinofil darah individu normal terhadap alergen, terutama ekstrak udang. Sehingga dapat dijelaskan kemungkinan mekanisme yang menyebabkan adanya perubahan tersebut.

BAB 7
PENUTUP

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian perbandingan jumlah eosinofil darah karena pemberian alergen intradermal dan latihan renang intensitas berat dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian latihan renang intensitas berat meningkatkan jumlah eosinofil.
2. Pemberian ekstrak udang intradermal tidak meningkatkan jumlah eosinofil.
3. Ada perbedaan jumlah eosinofil akibat latihan renang intensitas berat dan injeksi ekstrak udang intradermal.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan kajian secara *time series* menggunakan gradasi waktu, untuk mendapatkan pola perubahan jumlah eosinofil darah akibat pemberian ekstrak udang intradermal.
2. Perlu kajian lebih lanjut tentang macam alergen serta mekanisme kerjanya dalam mengakibatkan timbulnya alergi
3. Perlu kajian lebih lanjut tentang mekanisme kerja dan peranan fisiologis eosinofil dalam hubungannya dengan reaksi alergi dan efek latihan intensitas berat.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH and Pillai S. 2007. Cellular and Molecular Immunology. 6thed. Philadelphia : Saunders Elsevier. pp 47-71.
- Adachi T and Alam R. 1998. The mechanism of IL-5 signal transduction. *Am J Physiol* 275: C623-C633.
- Bellanti, JA. 1985. Immunology III. 3rded. WB Saunders Company, Philadelphia, PA.
- Beutler E, Lichtman MA, Collier BS and Kipps TJ. 1995. Williams Hematology. 5th ed. New York: McGraw-Hill, Inc, pp 211-223, 760-762, 798-809, 844-856.
- Bompa TO. 1994. Theory and Methodology of Training The Key to Athletic Performance. 3rd ed. Hunt Publishing Company. p. 24-25.
- Bouchard C. 1993. Physical Activity, Fitness, and Health Consensus Statement : Physical Activity, Fitness and Disease. 1st ed. Canada : Human Kinetic Publisher. P. 61-82.
- Brown RE. 1994. An Introduction to Neuroendocrinology. USA : Cambridge University Press. P. 99-100.
- Bullock BL and Henze RL. 2000. Focus On Pathophysiology. Lippincott Williams and Wilkins.
- Carlson NR. 2005. Autistic, Attention-Deficit/Hyperactivity, Stress and Substance Abuse Disorders in Foundations of Physiological Psychology 6thed. Pearson Publ. pp 495-529.

- Charlesworth EN, Kagey-Sobotka A, Schleimer RP, Norman PS and Lichtenstein LM. 1995. Prednisone inhibits the appearance of inflammatory mediators and the influx of eosinophils and basophils associated with cutaneous late-phase responses to allergen. *British J of Sport Med* 29(1): 61-65.
- Chatterjea JB, Dameshek W and Stefanini M. 1953. The Adrenaline (Epinephrine) Test as Applied to Hematologic Disorder. *Blood* 8: p.211-235.
- Crary B, Hauser SL, Borysenko M, Kutz I, Hoban C, Ault KA, Weiner HL and Benson H. 1983. Epinephrine-induced in the distribution of lymphocyte subsets in peripheral blood of human. *J of Immunol* 131(3): 1178-1181.
- Delvas PJ, Martin SJ, Burton DR and Roitt IM. 2006. *Roitt's Essential Immunology*. 11thed. Blackwell Publishing.
- Dhabbar FS, Miller AH, MacEwen BS and Spencer RL. 1995. Effect on stress on immune cell distribution. *J of Immunol* 154: 5511-5527
- Dhabbar FS and MacEwen BS. 1999. Enhancing versus suppressive effects of stress hormones on skin immune function. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 1059-1064.
- Farris EJ and Griffith JQ. 1962. *The Rat in laboratory investigation*. 2nd ed. New York: Hafner Publishing Co. pp 343, 406-411, 414, 417-419.
- Forsythe P, Ebeling C, Gordon JR, Befus AD and Vliagoftis. 2004. Opposing Effects of Short- and Long-term Stress on Airway Inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 169: pp 220-226.

- Fox EL, Bowers RW and Foss ML, 1993. *The Physiological Basis of Exercise and Sport*. 5th edition, Iowa: Brown & Benchmark, pp 330-331.
- Fox EL, 2003. *Human Physiology*. 8th ed. McGraw-Hill Publishing. p. 444-477.
- Ganong WF, 2005. *Review of Medical Physiology*. 22nd ed. New York: Lange Medical Books / McGraw-Hill Medical Publishing Division, pp 344-348, 514-527.
- Giembycz MA and Lindsay MA, 1999. Pharmacology of the eosinophil. *Pharmacological Reviews* 51 (2), pp. 216-309.
- Goligorsky MS. 2001. The concept of cellular “fight or flight” reaction to stress. *Am J Physiol: Renal Physiol* 280: 551-561.
- Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F and Glader B. 2004. *Wintrobe’s Clinical Hematology* volume 1. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp311-329, 335-345.
- Greenspan FS dan Baxter JD, 2000. *Basic and Clinical Endocrinology*. 4th ed. New York: Connecticut Appleton & Lange, pp 480-492.
- Gunawan B dan Sumadiono. 2007. *Stres dan Sistem Imun Tubuh : Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi*. *Cermin Dunia Kedokteran* 154
- Guyton AC and Hall JE, 2006. *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed. Philadelphia: WB. Saunders Co. pp 419-429, 659-690.
- Hardman JG, Limbird LE and Gilman AG. 2001. *Goodman and Gilman’s The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th ed. United States of America:

- McGraw-Hill Medical Publishing Division, pp 119-120, 129-149, 215-225,293-316.
- Harjanto dan Santoso KP. 2001. Penelitian pendahuluan tentang pengaruh intensitas dan durasi latihan renang pada tikus terhadap derajat stress oksidatif. *Majalah Ilmu Faal Indonesia* 1(1): 13-21.
- Hay JD and Andrade WN, 1998. Lymphocyte recirculation, exercise and immune response. *Can J Physiol Pharmacol* 76(5): 490-496.
- Higgins JE and Kleinbaum AP, 1985. Design methodology for randomized clinical trials. USA: Family Health International, pp 24-25.
- Jain NC. 1986. Schalm's : Veterinary Haematology. 4thed. Philadelphia : Lea & Febiger, pp 692-699.
- Jawi IM, Yasa IWPS dan Subawa AAN. 2005. Waktu Pemulihan granulosit darah setelah pemberian beban aktifitas fisik maksimal pada mencit. *Jurnal Kedokteran YARSI* 13(2) Mei-Agustus 2005: 169-173.
- Katzung BG. 2004. Basic and Clinical Pharmacology. 8th ed. Philadelphia: Connecticut Appleton & Lange, pp 124-131.
- Kawanaka K, Tabata I, Tanaka A and Higuchi M. 1998. Effects of high-intensity intermittent swimming on glucose transport in rat epitrochlearis muscle. *J. Appl. Physiol.* 84(6): 1852-1857.
- Keen P, McCarthy DA, Passfield L, Shaker HA and Wade AJ. 1986. Leucocyte and erythrocyte counts during multi-stage cycling race ('the Milk Race'). *The J of Immunology* 137(5): pp 1495-1503.

- Kresno SB. 1996. *Imunologi : Diagnosis dan prosedur laboratorium*. Edisi ketiga. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, hlm 10-24.
- Kuby, 2003. *Immunology*. 4th ed. McGraw-Hill Publishing. p. 362-389.
- Kuehnel W. 2003. *Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy*. 4thed. Appl,Wemding Germany
- Kusumawati D, 2003. *Bahan Ajar tentang Hewan Coba*, Universitas Airlangga, hal. 7-9.
- Lee GR, Foerster J and Lukens J, 1999. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10thEd., vol. 1, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins-A Wolters Kluwer Co, pp 134-152.
- Ley K. 1992. *Leucocyte adhesion to vascular endothelium*. *J Reconstr Microsurg* 8: 495-503.
- Mackinnon LT. 1992. *Exercise and Immunology*. Humen Kinetics Books, Canada.
- Matter F. 2003. *Saladin: Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function*, 3rded. The McGraw-Hill Companies.
- Helmy M dan Munasir Z. 2007. *Pemakaian Cetirizine dan Kortikosteroid pada Penyakit Alergi Anak*. *Dexa Media* 2(20): hlm. 68-73.
- Nieman DC, 1993. *Fitness & Your Health : Conditioning for Physical Fitness*. California : Bull Publishing Company : p. 111-134.
- Nernet D, Mills PJ and Cooper DM. 2004. *Effect of intense wrestling exercise on leucocytes and adhesion molecules in adolescent boys*. *Br J Sports Med* 38: pp 154-158.

- Pacak K and Palkovitz M, 2001. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses : Implications for Stress-Related Disorders. *Endocrine Reviews* 22(4): p. 502-548.
- Parsons JP and Mastrorarde JG, 2005. Exercise-Induced Bronchoconstriction in Athletes. *Chest* 128 : p. 3966-3974.
- Pedersen BK and Hoffman-Goetz L. 2000. Exercise and the immune system: Regulation, Integration and Adaptation. *Phys Rev* 80: pp 1055-1081.
- Picker LJ, Treer JR, Collins PA, Bergstresser PR and Terstappen LW. 1993. Control of lymphocyte recirculation in man. *J Immunology* 150: 1122-1136.
- Pike JL, Smith TL, Hauger RL, Nicassio PM, Patterson TL, McClintick J, Costlow C and Irwin MR. 1997. Chronic Life stress alters sympathetic, neuroendocrine and immune responsivity to an acute psychological stressor in human. *Psychosom Med* 59: pp 447-457
- Pudjirahardjo WJ, Poernomo H dan Machfoed MH. 1993. Metode Penelitian dan Statistik Terapan. Edisi pertama. Airlangga University Press, hal. 56-59.
- Putra ST. 1999. Development of Psychoneuroimmunological Concept. *Folia Medica Indonesiana*, XXXV. January-March. Pp 23-26
- Rika dan Nilawati S. 2004. Perubahan fisiologis pada penderita Exercise-Induced Asthma akibat latihan jasmani. *Majalah Kedokteran Atmajaya* 3(3) September 2004: 175-179.
- Roitt IM. 1993. *Imunologi*. Edisi ke-8. Penerbit Widya Medika Jakarta.
- Rothenberg ME. 1998. Eosinophilia. *New Engl J Med* 338: pp 1592-1600.

- Saint-Mezard P, Chavagne C, Bosset S, Ionescu M, Peyron E, Kaiserlian D, Nicolas JF and Bérard F. 2003. Psychological stress exerts an adjuvant effect on skin dendritic cell functions in vivo. *The J of Immunology* 22: pp 4073-4080.
- Setyawan S. 1996. Pengaruh Latihan Fisik Aerobik dan Anaerobik Terhadap Respons Ketahanan Tubuh : Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologik. Disertasi, Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Setyawan S. 2005. Eosinophilia in Physical Exercise Stressor: Pathobiology or Physiobiology?. *Folia Medica Indonesiana* 41: 261-265.
- Shephard RJ, 1980. *Physiology and Biochemistry of Exercise*, USA : Praeger Publisher : p.306.
- Sonenwirth A and Jarett L. 1981. *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis* volume One. 8th ed. China: C. V. Mosby Co. pp 785-793, 797-799.
- Stites DP, Terr AI and Parslow TG. 1997. *Medical Immunology*. 9th ed. Connecticut Appleton & Lange. Pp 183-184, 186-187.
- Subowo. 1993. *Imunologi Klinik*. Edisi 10. Penerbit Angkasa Bandung.
- Susan L, Cuvelie SL, Paul S, Shariat N, Colarusso P and Patel KD, 2005. Eosinophil adhesion under flow conditions activates mechanosensitive signaling pathways in human endothelial cells. *JEM* 202 (6), pp. 865-876.
- Terr AI, 1997. Mechanism of Hypersensitivity, in *Medical Immunology*. 9th ed. Connecticut Appleton & Lange. p 376-388.

- Viru A and Smirnova T, 1995. Health promotion and exercise training. *Sports Med* 19(2):121
- Whyte G. 2006. *The Physiology of Training*. Churchill Livingstone Elsevier. Pp 213-220.
- Widmaier EP, Raff H and Strang KT, 2004. Vander, Sherman and Luciano's *Human Physiology : The Mechanism of Body Function*. 9th ed. McGraw-Hill Publishing. p. 726-728.
- Wright RJ, Rodriguez M and Cohen S. 1998. Review of psychosocial stress and asthma: an integrated biopsychosocial approach. *Thorax* 53: 1066-1074.
- Zainuddin M, 2000. *Metodologi Penelitian*, Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

LAMPIRAN

Lampiran 1**Perhitungan Besar Sampel Penelitian**

Besar sampel minimal ditentukan dengan menggunakan rumus dari Higgins and Kleinbaum (1985) sebagai berikut:

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

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

Untuk data berpasangan, menurut Pudjirahardjo (1993):

$$\frac{Sc^2}{(Xc - Xt)^2} = \frac{QD^2}{\delta^2} = 1$$

Sehingga perhitungan besar sampel minimal adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} n &= \frac{1}{1 - 10\%} \times (1,65 + 0,824)^2 \\ &= 1,11 \times (2,47)^2 \\ &= 6,77 \\ &= 7 \end{aligned}$$

Keterangan:

n = besar sampel

Z_{α} = deviasi standar normal α 0,05 adalah 1,65 (untuk uji 1 ekor)

Z_{β} = deviasi standar normal β 0,2 adalah 0,824

Sc = QD = simpang baku kelompok kontrol

Xc = rerata kelompok kontrol

Xt = rerata kelompok perlakuan

f = proporsi kegagalan

$\delta = (Xc - Xt)$

Lampiran 2

Pemberian Alergen

4.1 Volume pemberian

Volume pemberian alergen diambil dari volume pemberian injeksi intradermal alergen yang terdapat pada buku *Medical Immunology* yaitu sebesar 0,01 ml (Terr, 1997).

4.2 Pelaksanaan Pemberian Alergen

4.2.1 Volume pemberian alergen

Pemberian injeksi intradermal alergen pada hewan coba dilaksanakan berdasarkan volume yang biasa diberikan pada injeksi intradermal yaitu sebesar 0,01 ml (Terr, 1997).

4.2.2 Pelaksanaan pemberian injeksi intradermal alergen

Terdapat satu kelompok dalam penelitian ini yang mendapatkan injeksi intradermal alergen yaitu K₁.

4.3 Pelaksanaan Pemberian Cocofiltrat

4.3.1 Volume pemberian Cocofiltrat

Volume pemberian larutan Cocofiltrat dilakukan sesuai dengan volume pemberian injeksi intradermal alergen, yaitu sebesar lebih kurang 0,01 ml.

4.3.2 Pelaksanaan pemberian injeksi intradermal Cocofiltrat

Terdapat dua kelompok dalam penelitian ini yang mendapatkan injeksi intradermal larutan Cocofiltrat yaitu K₀ dan K₂. Kelompok ini merupakan kontrol perlakuan dari kelompok pemberian alergen.

Lampiran 3

Pemeriksaan Hematologi Rutin dengan Metode Advia 120

Pemeriksaan : Hematologi Rutin

Alat : Advia 120

Prinsip Kerja :

- Pengukuran sampel diukur secara :
Pembacaan optical secara kolorimetri untuk parameter Haemoglobin
Flowsitometri.
- .Pengukuran secara kolorimetri :
Haemoglobin yang dioksidasi menjadi sianmethaemoglobin dibaca dengan
Optical kolorimetri pada 9546 nm.
- Pengukuran secara Flowsitometri :
Sel darah putih mengalami 2 proses metode sebagai berikut :
 - Baso metode : Lekosit dicampur dengan phtalic acid surfactan lalu dipanaskan.
 - Peroxidase metode : Lekosit dicampur dengan SDS formaldehyde dil. 1 lalu dipanaskan, ditambah 4-chloro-1-naptol dil. 2, H₂O₂ dil. 3).Dari 2 metode tadi lekosit dibaca pada flowsitometri dengan sinar laser 9670 nm dan dibaca 2 sudut yaitu sudut rendah (2-3⁰) dan sudut tinggi (5-15⁰).

Lampiran 4

Data Hasil Pengukuran Jumlah Eosinofil

| Kelompok | No | Variabel |
|---|----|---|
| | | Jumlah Eosinofil ($10^3/\mu\text{L}$) |
| K ₀ (injeksi cocofiltra intradermal 0,01 cc) | 1 | 7.39 |
| | 2 | 8.39 |
| | 3 | 8.13 |
| | 4 | 8.71 |
| | 5 | 8.26 |
| | 6 | 8.20 |
| | 7 | 8.10 |
| K ₁ (injeksi alergen intradermal 0,01 cc) | 1 | 8.77 |
| | 2 | 8.60 |
| | 3 | 8.23 |
| | 4 | 8.77 |
| | 5 | 8.91 |
| | 6 | 8.43 |
| | 7 | 9.28 |
| K ₂ (Latihan renang dengan beban 9% BB selama 80% kapasitas maksimal setelah selesai segera diinjeksi intradermal cocofiltra 0,01 cc (7 Ekor)) | 1 | 8.79 |
| | 2 | 8.38 |
| | 3 | 9.16 |
| | 4 | 8.78 |
| | 5 | 8.34 |
| | 6 | 9.13 |
| | 7 | 7.87 |

Keterangan:

μL = mikroliter (10^{-6} liter)

Lampiran 5**Hasil Analisis Deskriptif Kelompok****Descriptive Statistics**

| | KELOMPOK | Mean | Std. Deviation | N |
|---------------------|-----------|----------|----------------|----|
| JUMLAH EOSINOFIL | KONTROL | 142,8571 | 53,4522 | 7 |
| | ALERGEN | 142,8571 | 78,6796 | 7 |
| | OLAH RAGA | 457,1429 | 299,2053 | 7 |
| | Total | 217,2414 | 203,6611 | 21 |

Lampiran 6

Hasil uji Normalitas Distribusi

KELOMPOK = KONTROL

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | JUMLAH EOSINOFIL |
|----------------------------------|----------------|---------------------|
| N | | 7 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 142,8571 |
| | Std. Deviation | 53,4522 |
| Most Extreme Differences | Absolute | ,360 |
| | Positive | ,360 |
| | Negative | -,286 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | ,953 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | ,324 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = KONTROL

KELOMPOK = ALERGEN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | JUMLAH EOSINOFIL |
|----------------------------------|----------------|---------------------|
| N | | 7 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 142,8571 |
| | Std. Deviation | 78,6796 |
| Most Extreme Differences | Absolute | ,421 |
| | Positive | ,421 |
| | Negative | -,293 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | 1,115 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | ,167 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = ALERGEN

KELOMPOK = OLAHRAGA**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

| | | JUMLAH EOSINOFIL |
|----------------------------------|----------------|---------------------|
| N | | 7 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 457,1429 |
| | Std. Deviation | 299,2053 |
| Most Extreme Differences | Absolute | ,160 |
| | Positive | ,157 |
| | Negative | -,160 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | ,423 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | ,994 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = OLAH RAGA

Lampiran 7

Hasil Uji Homogenitas Berat Badan Sampel

ANOVA

BERAT BADAN

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | 796.235 | 3 | 265.412 | .231 | .874 |
| Within Groups | 29935.232 | 26 | 1151.355 | | |
| Total | 30731.467 | 29 | | | |

Lampiran 8

Hasil uji ANOVA

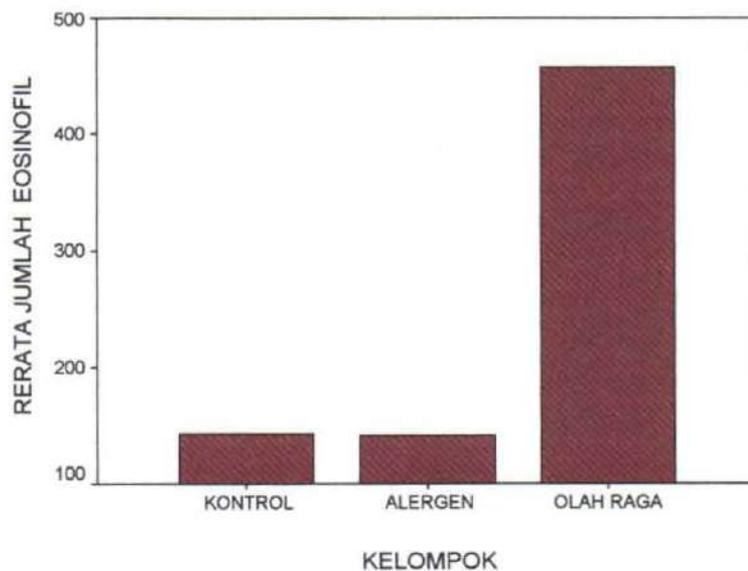
Tests of Between-Subjects Effects

| Source | Dependent Variable | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------|--------------------|-------------------------|----|-------------|-------|------|
| KELOMPOK | JUMLAH EOSINOFIL | 531200,739 | 3 | 177066,913 | 7,024 | ,001 |

Pairwise Comparisons

| Dependent Variable | (I) KELOMPOK | (J) KELOMPOK | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------------|------------|-------|
| JUMLAH EOSINOFIL | KONTROL | ALERGEN | ,000 | 84,865 | 1,000 |
| | | OLAH RAGA | -314,286 | 84,865 | ,001 |
| | ALERGEN | OLAH RAGA | -314,286 | 84,865 | ,001 |

RERATA JUMLAH EOSINOFIL

Diagram hasil penelitian rerata jumlah eosinofil (μL).

Lampiran 9

**Hasil Penimbangan Berat badan Tikus
(Gram)**

| Tikus | K ₀ | K ₁ | K ₂ |
|-------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | 280 | 280 | 280 |
| 2 | 215 | 215 | 215 |
| 3 | 201 | 201 | 201 |
| 4 | 190 | 190 | 190 |
| 5 | 190 | 190 | 190 |
| 6 | 183 | 183 | 183 |
| 7 | 183 | 183 | 183 |

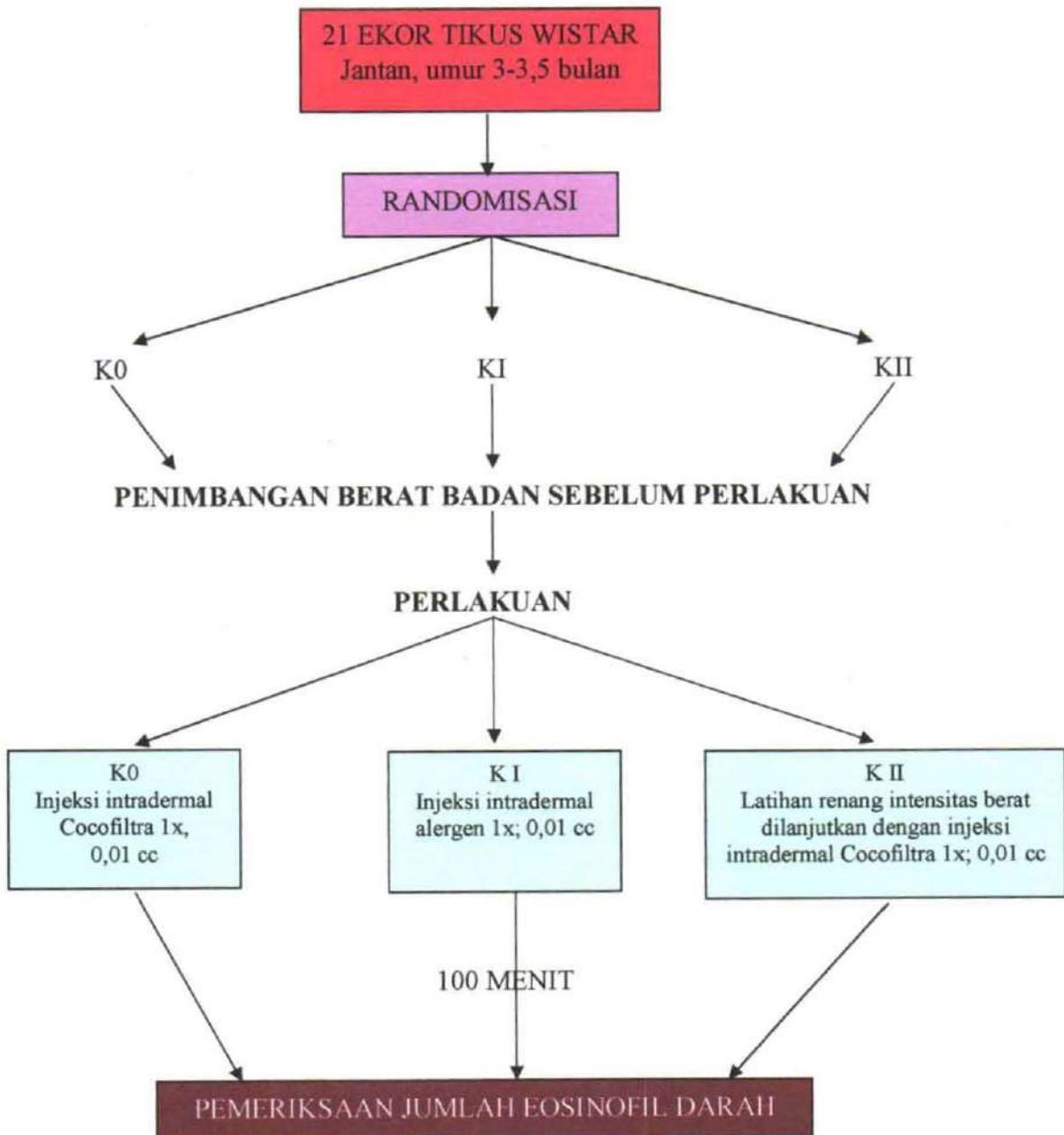
**Hasil Uji Anakova
Pengaruh Berat Badan**

Tests of Between-Subjects Effects

| Source | Dependent Variable | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--------|--------------------|-------------------------|----|-------------|------|------|
| BB | EOSINOFIL | 4090,683 | 1 | 4090,683 | ,157 | ,696 |

Lampiran 10

Alur Penelitian



Lampiran 11

JADWAL PELAKSANAAN

| Hari/tanggal | Perlakuan | Keterangan |
|------------------------------------|--|---------------------|
| Selasa, 25 September 2007 | -Timbang BB, Pembagian Kelompok | Seluruh kelompok |
| Rabu, 26 September 2007 | -Merenangkan tikus sampai kapasitas maksimal dengan beban 18% berat badan (tikus tenggelam 1x lalu langsung diangkat) dan dicatat waktunya | K2 |
| Kamis, 27 September 2007 | - Injeksi cocofiltra 0,01 cc intradermal | K0 |
| | AMBIL DARAH 2CC KELOMPOK K0, K1 SETELAH 100 MENIT. TIKUS K0, K1 DILAKUKAN DISLOKASI CERVICAL | |
| Jumat, 28 September 2007 | - Injeksi alergen 0,01 cc intradermal | K1 |
| | AMBIL DARAH 2CC KELOMPOK K1 SETELAH 100 MENIT. TIKUS K1 DILAKUKAN DISLOKASI CERVICAL | |
| Sabtu, 29 September 2007 | - Tikus K2 direnangkan selama 80% kapasitas maksimal, setelah selesai segera diinjeksi cocofiltra intradermal 0,01 cc | K2 |
| | AMBIL DARAH 2CC KELOMPOK K2 SETELAH 100 MENIT. TIKUS K2 DILAKUKAN DISLOKASI CERVICAL | |

Keterangan:

Pengambilan darah dilakukan 100 menit setelah injeksi (K0,K1,K2)

- K0 = injeksi cocofiltra intradermal 0,01 cc (7 ekor)
- K1 = injeksi alergen intradermal 0,01 cc (7 Ekor)
- K2 = Renang dengan beban 9% BB selama 80% kapasitas maksimal setelah selesai segera diinjeksi intradermal cocofiltra 0,01 cc (7 Ekor)
- Perlakuan dimulai tiap jam 8 pagi

Lampiran 12

Gambar Penelitian



Gambar 1. Kandang tempat pemeliharaan tikus



Gambar 2. Penimbangan Berat Badan Tikus



Gambar 3. Bak tempat merenangkan tikus



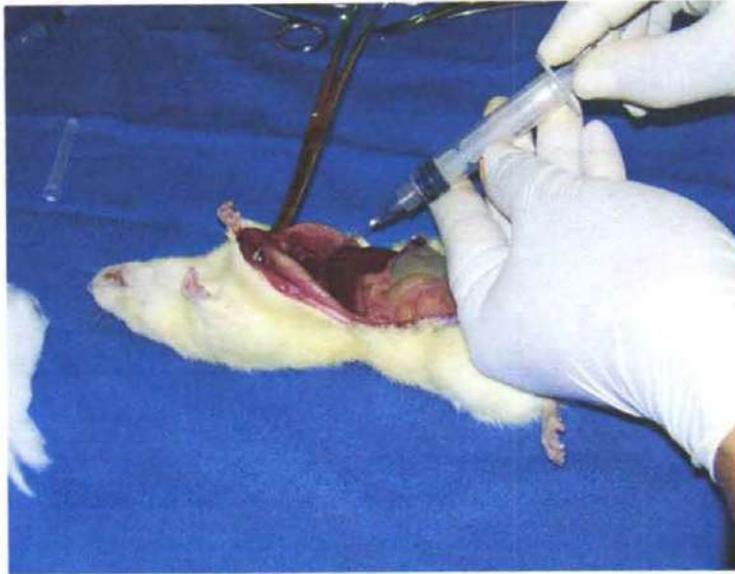
Gambar 4. Perlakuan renang pada tikus



Gambar 5. Perlakuan injeksi intradermal alergen maupun plasebo



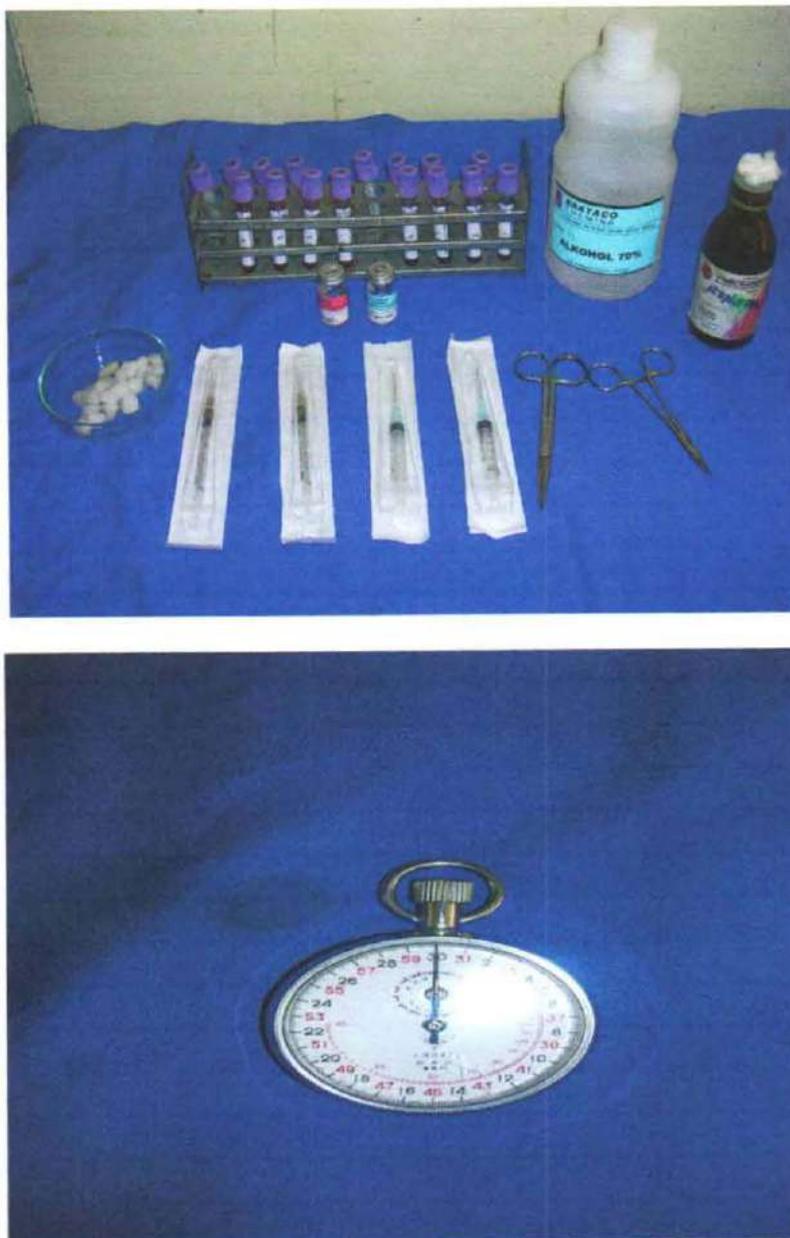
Gambar 6. Pembedusan tikus



Gambar 7. Pengambilan darah intrakardial



Gambar 8. Tabung tempat sampel darah tikus



Gambar 9. Alat-alat dan bahan penelitian

Lampiran 13

Sertifikat *Ethical Clearance*



**KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No :022-KE

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : Peningkatan Jumlah Eosinofil Darah Tikus Putih
(*Rattus novergicus* galur Wistar) Akibat Infeksi
Alergen Intradermal Sesudah Latihan Renang
Intensitas Berat

PENELITI UTAMA : dr. Indri Ngesti Rahayu

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT
PENELITIAN** : PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA

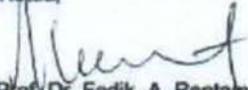
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 19 September 2007



Mengetahui
Dekan FKH Unair,
Prof. Romziah Bidik, Ph.D., drh.
NIP. 131 682 305

Ketua,



Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.
NIP. 131 653 434