

Perubahan Jumlah Leukosit Darah Tepi Pada Kondisi Stress Penelitian Eksperimental Laboratories Pada Tikus Wistar Jantan

Enti Isnarni*, Erna Sulistyani**

*RSU 'Aisyiyah Ponorogo

** Bagian Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Abstract

The leucocytes count and differential counting are routine blood test that have any significant role in diagnose and evaluation of disease or health. The aim of this study is to evaluated both in stress condition in animal model used Wistar male rat. Stress induced by electrical foot shock for 7 days. The result showed that leukocyte count in samples were higher than control ($p < 0.05$). It was considered that stressor induce the adrenal cortex's hormone secretion particularly glucocorticoid. This hormones caused movement of leukocyte in bone marrow storage to the vessel, leukocyte in marginating granulocyte pool moved to circulating granulocyte pool and and make the result of blood test is higher. This movement make the responds immunes to any injures worst and person with stress more susceptible to any infection.

Key word : stress, leucocytes count, differential counting

Korespondensi (Correspondence) : Enti Isnarni, Erna Sulistyani, RSU Aisyiyah Jl Dr. Sutomo 18-24 Ponorogo Ponorogo, Bagian Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Jl. Kalimantan 37 Jember 68121, Indonesia, Telp.(0331)333536

Tidak bisa dibantah bahwa individu yang mengalami stress akan mudah menderita sakit. Pada keadaan stress terdapat gangguan sistem imun sehingga individu lebih peka terhadap jejas dan penyimpangan sistem imun seperti autoimun dan alergi lebih mudah terjadi.¹ Indikator sistem imun manusia yang paling mudah diperiksa adalah jumlah leukosit yang beredar dalam sistem sirkulasi yang diistilahkan sebagai jumlah leukosit darah tepi. Pengaruh stress pada jumlah leukosit darah tepi belum banyak diteliti.

Penelitian ini menggunakan pendekatan medikofisiologi sebagai dasar untuk menentukan metode. Menurut pendekatan ini stress merupakan efek fisiologis terhadap stimuli yang mengancam.² Jadi stress adalah variable tergantung yang merupakan akibat dari paparan stressor dan apapun jenis stressornya, perubahan yang dihasilkan adalah sama. Stressor tidak terbatas pada stressor psikis seperti gangguan emosi saja namun juga fisik.³ Pada penelitian ini digunakan stressor rasa sakit yang berasal dari renjatan listrik. Stressor ini dipilih karena intensitasnya dapat diukur dan tidak ada efek ikutan.

Walaupun stresornya dapat berbeda-beda, keadaan stres selalu ditandai dengan meningkatnya sekresi suatu molekul sinyal CRF (*corticotropin releasing factor*), suatu senyawa yang sekaligus berfungsi sebagai neurotransmitter dan sebagai hormon (neurohormon). Selanjutnya CRF ini melalui axis HPA, merangsang pituitari anterior untuk mengeluarkan ACTH (adrenocorticotrophic hormone). ACTH akan memicu sekresi hormon-hormon kortek adrenal termasuk glukokortikoid. Glukokortikoid ini mempunyai efek meningkatkan kadar gula dalam darah

yang memang diperlukan saat orang mengalami stress, selain itu juga mempunyai efek immunosupresif dan jika berlebihan akan menyebabkan individu menjadi lebih mudah sakit.² Secara umum besarnya peningkatan konsentrasi glukokortikoid di plasma sebanding dengan intensitas rangsangan stressor. Pengeluaran kortisol lebih banyak dibangkitkan pada respons terhadap stressor yang lebih besar dibanding dengan stressor yang lebih kecil.⁴

Stressor renjatan listrik juga dirambatkan melalui sistem saraf otonom yaitu parasimpatik dan simpatik, sehingga merangsang sekresi katekolamin, epineprin, norepineprin dan asetilkolin.² Epineprin dan norepineprin dapat menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah dan peningkatan tekanan arteri.⁵

Hubungan stress dengan tingkat migrasi leukosit dikemukakan oleh Suryadhana (1997) bahwa terdapat adanya penurunan migrasi netrofil saat stress. Glukokortikoid juga menekan respons imun normal dengan jalan memblokir program Th 1 yang merupakan penghasil interferon gamma. Interferon gamma ini sangat berperan dalam aktivasi sel plasma untuk menghasilkan immunoglobulin.⁶ Apabila jumlah immunoglobulin menurun maka respon imun akan menurun. Th 1 ini juga efektif dalam memicu respons yang diperantarai oleh makrofag dan sel fagosit yang lain.⁷ Selain itu glukokortikoid terbukti menekan memicu apoptosis sel T.⁸ Mengingat peran sel Th dalam respons imun normal maka dampak glukokortikoid terhadap sel Th1 diatas dapat menerangkan mekanisme penurunan respons imun oleh karena glukokortikoid dapat terjadi.

Granulosit dalam aliran darah terbagi dalam dua kelompok yaitu

Circulating Granulocyte pool (CGP) yaitu granulosit yang ikut mengalir dalam sirkulasi dan marginating granulocyte pool yaitu granulosit yang ada pada tepi, menempel pada dinding pembuluh darah dan siap keluar dari pembuluh darah bila diperlukan. Pada saat pengambilan darah untuk pemeriksaan maka yang dihitung sebenarnya adalah CGP dan MGP tidak ikut dihitung.⁹

Leukosit yang beredar dalam tubuh kita secara normal hanyalah sebagian kecil. Pada keadaan stabil atau normal 10 sampai dengan 15 kali lipat dari jumlah keseluruhan leukosit yang beredar berada dalam ruang simpanan leukosit sumsum tulang. Hasil penghitungan jumlah leukosit dalam darah tepi tergantung pada : (1) rata-rata aliran masuk sel dari sumsum tulang; (2) Proporsi leukosit pada MGP dan CGP; (3) rata-rata aliran leukosit keluar dari pembuluh darah.⁴ Peningkatan jumlah leukosit darah tepi bisa diakibatkan oleh peningkatan aliran masuk leukosit dari sumsum tulang dan atau pergeseran leukosit dari MGP ke CGP atau penurunan aliran leukosit dari pembuluh darah ke jaringan.

Bahan dan metode

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan rancangan *post only control group design*. Sampel adalah tikus wistar jantan dewasa, terdiri dari 2 kelompok

yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi stressor. Stressor rasa sakit berasal dari renjatan listrik yang diperoleh dari alat *electrical foot shock* yaitu dengan mengalirkan arus listrik tegangan 25 V dan frekwensi 60 Hz pada lempengan logam didasar kandang perlakuan. Kandang perlakuan terbuat dari bak plastik berukuran 41 x 32 x 11 cm. Arus listrik yang diberikan hanya dengan tegangan 25 V ini hanya memberikan rasa sakit tanpa efek ikutan yang lain seperti nekrosis jaringan.

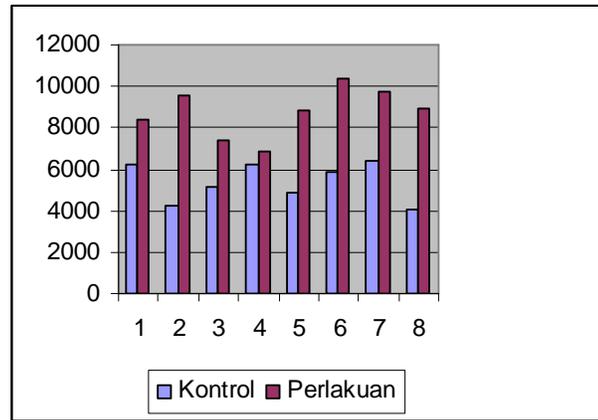
Tikus diberi stressor selama 7 hari mengingat pada hari ke 7 terjadi puncak peningkatan kadar glukokortikoid yang merupakan petanda adanya stress.⁷ Pemberian stressor dengan dosis yang bertambah tiap harinya dengan tujuan untuk menghindari efek adaptasi tikus terhadap rasa sakit yang diberikan. Pada hari ke 7 hewan coba dikorbkan 30 – 60 ment setelah pemberian stressor dan darah tepi diambil dari intrakardial.

Penghitungan Jumlah Leukosit dilakukan dengan menggunakan kamar hitung improved Neubauer. Pengenceran 10 kali dilakukan dengan menggunakan larutan turk dengan bantuan pipet pencencer untuk leukosit dari Thoma. Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali.

Hasil

Hasil penghitungan jumlah leukosit dapat dilihat pada table dibawah ini

| No | Jumlah Leukosit Total/cmm | |
|-----------|---------------------------|-------------|
| | Kontrol | Perlakuan |
| 1 | 6200 | 8400 |
| 2 | 4200 | 9600 |
| 3 | 5100 | 7400 |
| 4 | 6200 | 6900 |
| 5 | 4900 | 8800 |
| 6 | 5900 | 10400 |
| 7 | 6400 | 9700 |
| 8 | 4100 | 8900 |
| Rata-rata | 5375 | 8762.5 |
| SD | 925.434261 | 1179.512611 |



Hasil analisa data dengan menggunakan uji independent t test adalah sebagai berikut

| Pemeriksaan | t | df | Sig. |
|---------------|-------|----|-------|
| Lekosit Total | 6.443 | 14 | 0.000 |

Dari hasil uji tersebut diketahui bahwa jumlah leukosit pada kedua kelompok berbeda. Bila dilihat hasil mentah maka dapat dikatakan bahwa jumlah leukosit darah tepi kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok Kontrol.

Diskusi

Penelitian ini berada dalam lingkup penelitian yang bertujuan mengungkap perubahan-perubahan pada tubuh dalam keadaan stress. Dengan konsep stress menggunakan pendekatan medikofisiologikal penelitian tentang stress dapat dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan binatang coba yang dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan. Stress dihasilkan oleh stressor rasa sakit yang berasal dari electrical foot shock yang sudah terbukti dapat mengakibatkan stress yang ditandai dengan peningkatan kadar glukokortikoid dalam darah. Rasa sakit yang dihasilkan oleh electrical foot shock dapat dengan mudah diberikan, terukur intensitasnya dan tidak ada efek ikutan yang menyertai.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di bagian Biomedik, FKG Unej, diketahui bahwa pemberian stressor rasa sakit selama 7 hari dapat meningkatkan jumlah leukosit darah tepi secara signifikan. Seperti telah dipaparkan pada tinjauan pustaka. Hasil ini menunjukkan bahwa leukosit pada Circulating granulocytes pool bertambah banyak.⁶ Hal ini bisa disebabkan oleh, aliran leukosit dari sumsum tulang ke sirkulasi bertambah, pergerakan leukosit dari MGP ke CGP dan aliran leukosit dari sirkulasi ke jaringan berkurang.

Aliran leukosit ke sumsum tulang dapat meningkat pada keadaan stress. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada stress terdapat peningkatan glukokortikoid sampai 20 kali lipat, sedangkan pemberian dosis tunggal

dengan masa kerja pendek meningkatkan aliran masuk netrofil dari sumsum tulang ke dalam aliran darah. Seperti telah diketahui bahwa stok leukosit pada sumsum tulang sebanyak 15 sampai 20 kali jumlah keseluruhan leukosit yang ada dalam sirkulasi.¹⁰

Leukositosis sesudah keadaan stress seperti kerja fisik berat, penyuntikan epinephrine, pengobatan dengan kortokosteroid terjadi karena leukosit yang ada dalam kelompok MGP bergerak kedalam CGP. Darah yang diambil untuk pemeriksaan adalah darah yang beredar, jadi leukosit yang dihitung hanya pada kelompok CGP saja. Jadi leukositosis yang terjadi sebenarnya adalah "pseudoleukositosis". Leukosit yang d MGP ini akan didistribusikan kedalam jaringan.⁹ Jika ini terjadi maka akan menurunkan respons imun tubuh terhadap serangan mikroorganisme. Penurunan MGP akan mengakibatkan penurunan jumlah migrasi leukosit dari aliran darah ke jaringan

Jumlah leukosit dalam sirkulasi sangat mudah dan cepat berubah. Nilai absolute dan relative dapat berubah oleh stimulasi selama beberapa menit sampai beberapa jam.¹¹ Glukokortikoid bersama obat-obat lain dapat menurunkan produksi leukosit dari sumsum tulang dengan cara merusak prekursor sel-sel leukosit.¹² Jika cadangan dalam sumsum tulang sudah habis sedangkan stress terus terjadi leukositosis tidak akan terjadi

Kesimpulan.

Pada keadaan stress terdapat peningkatan jumlah leukosit darah tepi. Hal ini dapat disebabkan oleh peningkatan aliran leukosit dari simpanan di sumsum tulang ke aliran darah, pergerakan leukosit yang berada pada marginating granulocytes pool ke circulating granulocytes pool maupun penurunan aliran leukosit dari pembuluh darah ke jaringan. Penyebab kedua dan ketiga ini dapat menerangkan fakta bahwa pada keadaan stress terdapat penurunan respons imun terhadap mikroorganisme sehingga individu mudah terkena infeksi.

Daftar Pustaka

1. Asnar. E T P, 2001, Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respons Imun Mukosal Tikus Yang Stress Akibat Stressor Renjatan Listrik, Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi. Desertasi Program Doktor. Program Pasca sarjana Universitas Airlangga. Surabaya: 102 – 110.
2. Sulistyani E, 2003. Mekanisme Eksaserbasi Recurrent Aphthous Stomatitis Yang Dipicu Oleh Stressor Psikologis, Majalah kedokteran Gigi, ed Khusus Temu Ilmiah Kedokteran Gigi III, Surabaya: 334-337
3. Lubis W. H. 2000. " Kebisingan , Pengaruhnya terhadap Kesehatan" dalam Dentika Majalah Kedokteran Gigi. Vol 5 Sumatera Utara, KFG USU hal 47-52.
4. Henry, JB, 1998 Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method, 17th ed. : Davidson : Sandford
5. Guyton, AC, J E Hall. Buku ajar Fisiologi Kedokteran. Ed 9. alih bahasa Irawati S, LMA Ken Ariata T., Alex Satoso, Judul Asli Medical Text Book of Physiology. Jakarta : EGC. 1997;100-109
6. Stites DP, Terr AF, Parslow TG, 1997, *Medical Immunology*, 9 th ed, New Jersey, Prentice-Hall Int. Inc. pp43-63,130-46.
7. Almawy WY, Melemedjian OK, Reider MJ, 1999, An alternate mechanism of glucocorticoid antiproliferative effect: Promotion of Th2 cytokine secreting profile, Clinical Transplant, Oct;13(5): 365-74
8. Wang W. A NF-KappaB/c-myc-dependent survival pathway is targeted by corticosteroids in immature Thymocytes, J Immunol 1 ; 162 (1): 314-22
9. Hoffbrand, A. V., JE Pettit, 1996, Kapita Selekta Haematologi Alih bahasa Iyan Dharmawan . Judul Asli Essential Haematology, EGC, Jakarta 102-10
10. Katzung BG, 2002, Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 8. Penerjemah: Bagian farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Judul Asli "Basic and Clinica Pharmacology" Medika., Jakarta
11. Widman, FK 1995. Tinjauan Klinis atas hasil pemeriksaan laboratorium, edisi 9 diterjemahkan oleh Bagian Patologi Klinik FK UI/RSCM. Judul Asli "Clinical Interpretation Of Laboratory Test" EGC. Jakarta
12. www.med-ed.virginia.edu/course, tgl 1 April 2010