

PENGARUH PEMBERIAN *EPINEPRIN* DAN *HIDROKORTISON* TERHADAP JUMLAH DAN DIAMETER *GERMINAL CENTER* KELENJAR GETAH BENING TIKUS PUTIH JANTAN WISTAR

Siti Arifah *
Okti Sri Purwanti **

Abstract

Stress is a non specific response of body if the deman of body increase cause a stressor. Stress will increase sympathetic activity with releasing apineprhine and cortisol. Releasing apineprhine and cortisol to long time will reducing imunity system. Stress can reducing lymphosit B expression, but are this response include exchange of amount and diameter of center germinal in lymph node. This research is to purpose to find out epineprhine and cortisol administration make reducing of amount and diametre center germinal of lymph node. Sample in this research are 20 rattus norvegiccus Wistar, divided to 4 group, they are control that administrated NaCl, first experiment administrated epinefrin, second experiment administrated hidrokortisone, and third experiment administrated both epineprhine and hidrocortishone. The sampling technique is simple random sampling, and collecting data taken from lymph node histologic preparation and then observed with ray microscope.

The research resulting significance score is 0,000 ($p < 0,05$) to anova test, and LSD test is resulting score of controle with epineprhine is 0,006, controle with cortisol is 0,003, and controle with both epineprhine and cortisol is 0,000 for center germinal amount, and then for diametre between controle with epineprhine is 0,132, controle with cortisole is 0,22, and control with both epinefrin and cortisol is 0,002. Conclude the research is epineprhine and cortisol administration are reducing amount and diametre center germinal of lymph node rattus norvegiccus Wistar.

Key Words : Epineprhine, cortisol, center germinal

* Siti Arifah

Dosen Keperawatan FIK UMS, Jl. A. Yani Tromol Post 1 Kartasura.

** Okti Sri Purwanti

Dosen Keperawatan FIK UMS, Jl. A. Yani Tromol Post 1 Kartasura.

PENDAHULUAN

Stress merupakan suatu respon non spesifik pada tubuh terhadap banyak kebutuhan akibat paparan dari stresor. Stress juga dianggap merupakan kemampuan mempertahankan stabilitas lingkungan internal melalui perubahan berupa proses adaptif aktif melalui produksi berbagai macam mediator seperti steroid adrenal, katekolamin, sitokin, mediator jaringan, dan gen (McEwen, 1998). Stres psikologis saat ini paling banyak dialami oleh seseorang dalam kehidupan sehari-hari, dimana stress psikologis sangat mempengaruhi proses emosional dan mungkin menimbulkan perubahan tingkah laku seperti cemas, takut dan frustrasi (Pacak & Palkovits, 2001).

Stres akan meningkatkan aktifitas saraf simpatis, untuk melepaskan hormon stres berupa adrenalin dan kortisol (Guyton, 2003). Sistem imun merupakan komponen penting dalam respon adaptif stress secara fisiologis. Stresor yang tinggi dapat menyebabkan peningkatan nyata kadar

ACTH, epinefrin dan norepinefrin. Stress akut dapat meningkatkan respon imun, sedangkan stress kronik menurunkan respon imun (Dhabar & McEwen, 2001).

Serat saraf noradrenergik berjalan dalam pleksus yang berbatasan dengan sel-sel otot polos pembuluh darah dalam organ limfoid, sehingga diduga bahwa norepinefrin dilepaskan dari seratserat ini dan berperan penting dalam mengontrol aliran darah ke organ dan akhirnya berpengaruh terhadap perjalanan limfosit. Norepinefrin dilepaskan dari serat saraf perivaskuler atau parenkim mungkin mempengaruhi sel-sel limfoid dan berperan kuat dalam imunomodulator (Elenkov et al., 2000).

Berdasarkan uraian diatas diperoleh bahwa stress psikologis menyebabkan peningkatan kadar adrenalin dan kortisol dalam darah., tetapi belum diketahui jelas apakah melibatkan perubahan pada jumlah dan diameter germinal center. Untuk mengetahui lebih lanjut efek adrenalin dan kortisol terhadap *germinal center*, maka dilakukan penelitian menggunakan tikus sebagai percobaan

dengan dilakukan injeksi adrenalin dan hidrokortison.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratories dengan rancangan *Randomized Separated Posttest Only Control Group Design*. Populasi ini adalah tikus putih wistar dari Unit pemeliharaan hewan coba Universitas Airlangga Surabaya. Sampel penelitian berjenis kelamin jantan, dewasa, umur 3 bulan, berat badan 150–250 gram dengan kondisi sehat. Teknik sampling adalah *simple random sampling*, dan dibagi menjadi 4 kelompok. Besar sampel minimal ditentukan berdasarkan rumus sampel dari Pudjiraharjo (1993) sebesar 5 sampel per kelompok.

Variabel dalam penelitian ini, untuk variabel bebasnya adalah injeksi adrenalin, injeksi hidrokortison dan kombinasi injeksi adrenalin dan hidrokortison selama 7 hari. Variabel terikat penelitian ini adalah jumlah dan diameter *germinal center*. Variabel kendalanya adalah jenis hewan coba, jenis kelamin hewan coba, umur hewan coba, berat badan hewan coba, kesehatan hewan coba. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jumlah dan diameter *germinal center* kelenjar getah bening. *Germinal center* merupakan tempat berlangsungnya proliferasi dan diferensiasi limfosit B menjadi sel plasma (Park, 2005).

Definisi operasional variabel injeksi adrenalin berulang adalah kelompok tikus yang memperoleh injeksi adrenalin 6 kali sehari, dengan selang 1 jam selama 7 hari, satu kali injeksi 0,5 ml secara intramuscular. Injeksi hidrokortison berulang adalah kelompok tikus yang memperoleh injeksi cortidex 6 kali sehari, dengan selang 1 jam selama 7 hari, satu kali injeksi 0,5 ml secara intramuscular.

Injeksi kombinasi adrenalin berulang adalah kelompok tikus yang memperoleh injeksi adrenalin dan cortidex 6 kali sehari, dengan selang 1 jam selama 7 hari, satu kali injeksi 0,5 ml secara intramuscular.

Jumlah pusat germinal adalah jumlah pusat germinal yang terdapat pada 1 penampang irisan sagital kelenjar getah bening (pada daerah leher). Penghitungan dilakukan melalui preparat histologis irisan sagital dengan irisan yang diusahakan melalui

hilus kelenjar getah bening, dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali.

Ukuran germinal center adalah diameter rata-rata dari semua pusat germinal yang terdapat pada penampang irisan sagital kelenjar getah bening daerah iliaka. Diperoleh dengan mengukur gambaran preparat histologis irisan sagital kelenjar getah bening dengan menggunakan gratikule, dengan pembesaran 40 kali, dan menggunakan satuan cm

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Berat badan tikus ditimbang pada awal perlakuan dan akhir penelitian. Dari hasil penelitian terdapat penurunan berat badan secara drastis pada kelompok epinefrinkortisol. Berikut ini rerata selisih berat badan pada awal perlakuan dan akhir perlakuan untuk masing-masing kelompok, kontrol (-2), Epineprin (16,8), kortisol (37), EpiKortisol (45.8). Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Hasil uji $p > 0.05$ untuk berat badan tikus awal dan akhir, sehingga data terdistribusi normal. Hasil uji normalitas untuk jumlah germinal center diperoleh $p > 0.05$ (0.362) dan diameter germinal center $p > 0.05$ (0.982), sehingga data berdistribusi normal. Syarat agar tikus dapat digunakan sebagai sampel adalah berat badan semua tikus harus homogen, dan dari hasil uji homogenitas berat badan tikus adalah 0,000 sehingga sampel homogen.

Uji Manova

Berdasarkan hasil uji anova pada kelompok eksperimen, dengan menggunakan metode Hotelling's Trace, diperoleh tingkat signifikansi $F = 0,000$ ($P < 0,05$), sehingga ada perbedaan yang berarti pada masing-masing kelompok eksperimen. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa epinefrin berpengaruh terhadap jumlah dan diameter pusat germinal kelenjar getah bening.

Uji Beda Nyata Terkecil (LSD)

Untuk mengetahui variabel mana yang berbeda secara nyata, maka dilakukan uji beda nyata terkecil (LSD = least significance different). Berdasarkan hasil uji LSD, diperoleh beberapa hasil, yaitu untuk variabel diameter *germinal*

center, perbandingan antara kontrol dengan Epinefrin diperoleh taraf signifikansi 0,006 ($p < 0,05$), perbandingan antara kelompok kontrol dengan kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,003 ($p < 0,05$), perbandingan kelompok kontrol dengan epinefrin+kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,002 ($p < 0,05$), yang berarti ketiga perlakuan terdapat beda nyata. Perbandingan antara kelompok epinefrin dengan kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,355 ($p > 0,05$) yang berarti tidak ada beda nyata, perbedaan antara kelompok epinefrin dengan epinefrin + kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,056 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat beda nyata, sedangkan perbandingan kelompok kortisol dengan epinefrin+kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,283 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat beda nyata.

Variabel jumlah *germinal center* diperoleh hasil, perbandingan antara kontrol dengan epinefrin diperoleh taraf signifikansi 0,006 ($p < 0,05$), perbandingan antara kelompok kontrol dengan kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,003 ($p < 0,05$), perbandingan kelompok kontrol dengan epinefrin+kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat beda nyata. Perbandingan antara kelompok epinefrin dengan kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,661 ($p > 0,05$), perbedaan antara kelompok epinefrin dengan epinefrin + kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,016 ($p > 0,05$), sedangkan perbandingan kelompok kortisol dengan epinefrin+kortisol diperoleh taraf signifikansi 0,283 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat beda nyata.

Rancangan penelitian menggunakan *randomized separated posttest control only group design* (Zainudin, 2000). Rancangan ini digunakan karena pada penelitian ini setiap hewan coba (tikus) akan dikorbankan, untuk diambil kelenjar getah beningnya, sehingga tidak mungkin menggunakan rancangan *pretest-posttest*. Penelitian ini bersifat eksperimental murni karena ada kelompok kontrol terhadap perlakuan yang diberikan, pemberian injeksi subkutan juga merupakan stres fisik pada hewan coba sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Pengambilan sampel tikus pada usia dewasa pada usia 3-3 1/2 bulan, bertujuan mendapatkan gambaran diferensiasi dan proliferasi *germinal center* yang stabil tanpa dipengaruhi oleh berbagai faktor pertumbuhan. Kondisi tikus sehat ditujukan untuk mendapatkan diferensiasi *germinal center* yang tidak dipengaruhi oleh keadaan infeksi pada tikus.

Hasil manova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan uji LSD tampak bahwa jumlah germinal center antara kelompok kontrol dengan perlakuan epinefrin diperoleh beda nyata dengan taraf signifikansi 0,006 ($p < 0,05$). Hal ini sesuai dengan mean dari jumlah dan diameter germinal center yang mengalami penurunan.

Hasil uji LSD kelompok kontrol dengan perlakuan kortisol menunjukkan beda nyata dengan taraf signifikansi 0,003 ($p < 0,05$), sedangkan untuk diameter menunjukkan taraf signifikansi 0,022, dimana hal ini menunjukkan penurunan bermakna jumlah dan diameter *germinal center* akibat pemberian injeksi kortisol. Penurunan jumlah *germinal center* menunjukkan lebih besar nilainya dibanding diameter, sehingga kortisol mempunyai pengaruh lebih besar terhadap jumlah daripada diameter. Hal mencerminkan berkurangnya *homing* limfosit B pada kelenjar getah bening, sehingga sistem imunitas tubuh juga menurun.

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa pemberian epinefrin dan kortisol secara bersama-sama menunjukkan hasil sangat signifikan (0,000 untuk jumlah dan 0,002 untuk diameter). Hal ini karena epinefrin dan kortisol dapat menyebabkan penurunan jumlah *germinal center* yang secara umum menyebabkan penurunan sistem imun spesifik dalam tubuh, dimana epinefrin dan kortisol merupakan 2 katekolamin penting yang dikeluarkan ketika seseorang mengalami stres (Koenker, 1994). Peningkatan epinefrin dan kortisol secara terus-menerus dapat terjadi pada stres kronis, sehingga dapat menyebabkan penurunan sistem imun secara keseluruhan yang ditandai dengan mudahnya seseorang terserang penyakit. Hal ini dapat disebabkan karena menurunnya produksi sel plasma akibat menurunnya jumlah *germinal center*. Hal ini mendukung penelitian Segerstorm (2004), dimana tekanan stres jangka panjang akan menekan kemampuan sistem imun dalam melawan virus, bakteri dan parasit, dimana stres kronis dapat menurunkan kekebalan tubuh seseorang. Penelitian ini juga mendukung penelitian Elenkov (2003) dimana penurunan jumlah limfosit dapat disebabkan oleh penurunan proliferasi limfosit pada jaringan limfoid. Proliferasi limfosit B terjadi pada *germinal center* folikel sekunder kelenjar getah bening (Roitt, 2001). Stres kronis juga menyebabkan peningkatan kematian akibat penyakit kardiovaskuler (Kivimaki et al, 2002). Penurunan jumlah dan diameter germinal center

secara signifikan pada pemberian epinefrin dan kortisol, juga selaras dengan penurunan berat badan tikus yang signifikan sekitar 45,8 gr. Hal ini menunjukkan bahwa stress tinggi menyebabkan penurunan ketahanan tubuh. Penelitian lain tentang efek stres juga menunjukkan bahwa stres dapat menurunkan kemampuan seseorang bertahan terhadap rhinovirus (Jones, 2003).

Variabel diameter dan jumlah *germinal center* antara kelompok epinefrin dengan kortisol menunjukkan hasil beda tidak nyata dengan taraf signifikansi 0,661 (jumlah), dan 0,355 (diameter). Hal ini menunjukkan bahwa epinefrin dan kortisol didalam tubuh dikeluarkan dari medula dan korteks adrenal pada saat bersamaan ketika seseorang mengalami stress, sehingga apabila salah satu ditingkatkan kadarnya akan memberikan efek hampir sama. Variabel jumlah *germinal center* menunjukkan tidak ada beda nyata (0,283) antara kortisol dengan epinefrin+kortisol, namun terdapat beda nyata pada jumlah *germinal center*, hal ini menunjukkan jumlah lebih terpengaruh dikarenakan perangsangan proses apoptosis lebih besar. Pemberian epinefrin dan kortisol ternyata dapat menurunkan diameter dan jumlah *germinal center* akibat penurunan proliferasi dan peningkatan kecepatan apoptosis limfosit B yang berada dalam *germinal center* akibat rangsang epinefrin. Dalam penelitian ini penurunan diameter dan jumlah pusat *germinal* diikuti pula dengan penurunan berat badan secara nyata. Hal ini karena pada

keadaan kortisol yang tinggi menimbulkan mobilisasi cadangan energi (glikogen) dihati dan otot. Peningkatan kortisol dan epinefrin terjadi pada keadaan semua jenis stres baik fisik, psikologis, lingkungan, kimiawi maupun trauma. Selain itu kortisol yang tinggi didalam darah dapat menyebabkan ketidakseimbangan gula darah, penurunan densitas tulang, dan jaringan otot (Scott, 2000).

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

Pemberian NaCl tidak menurunkan jumlah dan diameter *germinal center* kelenjar getah bening tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan Wistar.

Pemberian epinefrin dapat menurunkan jumlah dan diameter *germinal center* kelenjar getah bening tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan Wistar.

Pemberian kortisol dapat menurunkan jumlah dan diameter *germinal center* kelenjar getah bening tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan Wistar.

Pemberian kortisol dan epinefrin secara bersama-sama dapat menurunkan jumlah *germinal center* kelenjar getah bening tikus putih (*rattus norvegicus*)

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK., Murphy KM., Sher A. 1996. *Functional Diversity of helper T Lymphocytes*. Nature (Lond) 383: 787-793
- Bosch JA., Ring C., de Gues EJC., Veerman ECI., Amerongen AVN. 2002. *Stress and Secretory Immunity*. Review of neurobiology, 52: 213-253
- Chrousos GP., Gold PW. 1992. *The Concepts of Stress and Stress System Disorders. Overview of Physical and Behavioral Homeostasis*. JAMA 267: 1244-1252
- Crary B, Hauser SL, Borysenko M, Kutz I, Hoban C, Ault KA, Weiner HL and Benson H. 1983. *Epinephrine-induced in the distribution of lymphocytes subsets in peripheral blood of human*. Journal of Immunol 131(3): 1178-1181.
- Damayanti R. 2000. *Pengaruh hidrokortison dan adrenalin terhadap pola respon mobilisasi sel imunokompeten dalam darah tikus putih*. Surabaya. Tesis
- Dhabbar FS., McEwen BS. 1997. *Acute Stress Enhanced While Chronic Stress Suppresses Cel-Mediated Immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking*. Brain, behavior, and immunity, 11: 286-306.

- Dhabbar FS., McEwen BS. 1999. *Enhancing Versus Suppressive effects of Stress Hormones on Skin Immune Function*. Proc Nati Acad Sci USA, 96: 1059-1064.
- Dominguez-Gerpe L., Rey-Mendez M., 2001, *Alteration induced by chronic stress in lymphocyte subsets of blood and primary and secondary immune organs of mice*, BMC immunology 2.7 July
- Elenkov IJ., Wilder RL., Chrousos GP., Vizi ES. 2000. *The Sympathetic Nerve-an integrative interface between two supersystems : the brain and the immune system*. Pharmacol Rev 52:595-638
- Scott E., 2000. *The Cortisol*. <http://stress.about.com/od/stresshealth/a/cortisol.htm>
- Farris EJ., Griffiyh JQ. 1962. *The Rat in Laboratory Invetigation*. 2nd ed. New york: hafner Publishing Co.pp 343, 406-411, 414.
- Felten DL., Livnat S., Felten SY., Carlson SL., Bellinger DL., Yeh P. 1984. *Sympathetic Innervation of Lymph Node in Mice*. Brain Res Bull 13:693-699
- Ganong WF. 2003. *Review of Medical Physiology*. 21th ed. New York: McGraw-Hill
- Greenspan FS., Baxter JD. 2000. *Basic and Clinical endocrinology*. 4th ed. New York: Connecticut Appleton & Lange.pp 480-492
- Guyton AC., Hall JE. 2004. *Text Book of Medical Physiology*. 10th ed. New York: WB. Saunders Company, pp 419-29, 659.
- Jones J. 2003. *Stress responses, pressure ulcer development and adaptation*. British Journal of Nursing. 12: 17-23
- Kivimaki M., Leino-Arjas P., Luukkonen R., Riihimaki H., VahteraJ., Kirjonen J. 2002. *Work stress and risk of cardiovascular mortality : prospective cohort study of industrial employees*. British Medical Journal. 325 : 857-861
- Kusumawati D. 2003. *Bahan Ajar Tentang Hewan Coba*. Surabaya: FK Unair, hlm 5-7, 45-46, 67.
- Keicolt-Glaser JK . Glaser R. 1988. *Methodological Issues in Behavioral Immunology Research with Humans*. Brain, Behavior, and immunity, 2; 67-78
- Koenker Hannah. 1994. *Strees and system immune* (online) (<http://www.econ.uiuc.edu/~hanko/Bio/stress.html>), diakses tanggal 5 Januari 2006.
- Marshall GD., Agarwall SK., Lloyd C., Cohen L., Henniger EM., Morris GJ. 1998. *Cytokine Dysregulation Associated with Exam Stress in Healthy Medical Students*. Brain, Behavior, and Immunity, 12: 297-307
- McEwen BS. 1998. *Protective and Damaging Effects of Stress Mediators*. N Engl J MEd 338:171-179
- Pacak K., Palkovits M. 2001. *Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implication for stress-related disorders*. Endo Rev 22: 502-548
- Pedersen BK., Hoffman-Goetz I. 2000. *Exercise and the Immune System : Regulation, Integration, and Adaptation*. Physiological Reviews, 80 (2): 1055- 1073.

- Pollok Ke., O'Brein V., Marshall L., Olson JW., Noelle Rj., Snow EC. 1991. *The Development of Competence in Resting B Cells. The Induction of cyclic AMP and ornithine Decarboxylase Activity After Direct Contact Between B and T Helper Cells.* J Immunol 146: 1633-1641
- Pudjirahardjo WJ., Poernomo H., Machfoed MH. 1993. *Metode Penelitian dan Statistik Terapan.* Surabaya: Airlangga University Press, hlm 57-58.
- Roitt IM., Delves PJ. 2001. *Roitt's Essential Immunology.* 10th ed. Massachussets: Blackwell Science.pp 151-160
- Roitt I, Brostoff J., Male D. 2001. *Immunology.* 6th ed. Edinburgh: Mosby.pp 37-40
- Saito H. 1991. *The Relationship between The Sympathetic Nerves and Immunocytes in The Spleen.* Kaibogaku Zasshi 66:80-86
- Sanders VM. 1998. *The Role of Norepinephrine and Beta2-adrenergic Receptor Stimulation in The Modulation of Th1, Th2 and B lymphocyte Function.* Adv Exp Med Biol 437:269-278
- Sanders VM., Baker VA., Ramer-Quinn DS., Kasprovicz DJ., Fuchs BA., Street NE. 1997. *Differential Expression of The Beta2-Adrenergik Receptor by Th1 and Th2 Clones : Implications for Cytokine Prodction and Cell B Help.* J Immunol 158:4210
- Segerstorm SC., Miller GE. 2004. *Psychological Stress and The human Immune System ; a meta-analytic study of 30 years of inquiry.* Psychological Bulletin, 130(4):601-630.
- Visnawathan Kavitha, Dhabhar SF. 2005. *Stress-induced enhancement of leukocyte trafficking into sites of surgery or immune activation.* PNAS 102 (16) : 5808-5813
- Watts TH., Alaverdi N., Wade WF., and Linsley PS. 1993. *Induction of Costimulatory Molecule B7 in M12 B Lymphomas by cAMP or MHC-restricted T Cell Interaction.* J Immunol 150: 2192-202