

PENGARUH PEMBERIAN QUERCETIN TERHADAP DEGRANULASI

SEL MASTOTAK PADA TIKUS WISTAR YANG DIBERISTRES

SUBAKUT

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Adi Kuncoro

NIM . 145070107111044

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

PENGARUH PEMBERIAN QUERCETIN TERHADAP DEGRANULASI

SEL MASTOTAK PADA TIKUS WISTAR YANG DIBERISTRES

SUBAKUT

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Adi Kuncoro

NIM . 145070107111044

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG


2018

HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR
PENGARUH PEMBERIAN QUERCETIN TERHADAP DEGRANULASI SEL
MAST OTAK PADA TIKUS WISTAR YANG DIBERI STRES SUBAKUT


Oleh:
Adi Kuncoro
NIM 145070107111044

Telah diuji pada
Hari : Kamis
Tanggal : 22 Februari 2018
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I


dr. Riva Yudinata Brian Nopriana, M.Biomed
NIP. 2016079008141001

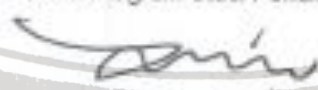
Pembimbing-I/Penguji-II


dr. Obed T. K. Paundralinga, MSc
NIP. 198505122009121003

Pembimbing-II/Penguji-III


dr. Ali Haidar Sa. FM
NIK. 197905042005011009

Mengstahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,


dr. Triwahy Astuti, M.Kes., Sp.P
NIP. 197702252003122001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Adi Kuncoro

NIM : 145070107111044

Program Studi : Program Studi Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Februari 2018

Yang membuat pernyataan,

Adi Kuncoro

NIM. 145070107111044



KATA PENGANTAR

Segala puji syukur untuk Bapa di Sorga atas anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir "Pengaruh Pemberian Quercetin terhadap Degranulasi Sel Mast Otak Tikus Wistar yang Diberi Stres Subakut".

Puji Syukur bahwa Tuhan telah mengizinkan banyak pihak untuk membantu penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini. Penulis berterima kasih kepada:

1. dr. Obed T. K. Paundralingga, M.Sc. selaku pembimbing I yang telah membimbing penulis dengan tekun dan sabar dalam menyusun proposal, dalam menjalankan penelitian, serta pembahasan hasil hingga Tugas Akhir penulis terselesaikan.
2. dr. Ali Haedar Sp. EM selaku pembimbing II yang telah mengoreksi dan memberikan bimbingan penyusunan proposal hingga hasil Tugas Akhir penulis.
3. dr. Rivo Yudhinata B. N., M.Biomed selaku penguji I yang telah bersedia dan menyempatkan waktu untuk menguji Tugas Akhir penulis.
4. dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes, Sp.P(K) selaku Ketua Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.

7. Analisis di laboratorium Anatomi Histologi yang telah membantu penulis menyelesaikan penelitian ini.

8. Ayahanda Agung Cahyo Kuncoro dan Ibunda Ekawati Tristyarini yang telah mendoakan, memberikan dukungan dan semangat secara terus menerus untuk penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir.

9. Erwin Alexander Pasaribu, Sharon Thesalonica Delaney, Shaza Nathasya Sandakh, Yoris Junanto selaku tim penelitian yang sudah menyelesaikan penelitian bersama-sama dengan sangat baik.

10. Kristina Linggam, Agung Raka, Maharani Dwi, Zahra, Iffa Maulidya, Arum Sulistyarini, Wahyu Muji Iswanto, Mas Memet, Theo Nanta, Theofilus Guritno, Beno Bernardino, Ivanna Yuhan, Sheila Permata, Daniel Setiawan, Anthony, Yoel Bagus, Krisna Yogi, Rivaldo, Septin Mauludiyana, William Hartanto, Stefanus Renanda, Michael Exel, Bambang Gunadi, Samuel Nababan, Sukraj, Madeleine Putri, Priscilla Maiselina S.

Malang, 22 Februari 2018

Penulis

ABSTRAK

Kuncoro, Adi 2017. *Pengaruh Pemberian Quercetin Terhadap Degranulasi Sel*

Mast Otak Pada Tikus Wistar yang Diberi Stres Subakut. Tugas Akhir,

Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

Pembimbing: (1) dr. Obed T. K. Paundralingga, Msc (2) dr. Ali Haedar

Sp.EM

Stres diketahui berperan dalam proses terjadinya beberapa kondisi patologis dalam tubuh manusia, seperti gangguan tidur, migraine dan kondisi lainnya dimana mekanismenya berkaitan dengan proses pengeluaran mediator inflamasi oleh sel mast otak yang mengalami degranulasi. Quercetin diketahui dapat mencegah degranulasi sel mast perifer. Quercetin juga diketahui dapat menembus sawar darah otak. Penelitian ini dilaksanakan untuk mengevaluasi efek dari pemberian quercetin intraperitoneal terhadap degranulasi sel mast otak tikus yang mengalami paparan stres subakut audiogenik berupa *white noise* berdurasi 4 jam per hari selama 14 hari. Sel mast diidentifikasi dengan menggunakan pewarnaan toluidine blue pada regio talamus. 6 tikus digunakan pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan injeksi intraperitoneal quercetin jumlah sel mast dan degranulasi sel mast yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol (kelompok yang mendapat paparan stres namun tidak mendapat injeksi quercetin intraperitoneal) ($p < 0.05$). Dapat disimpulkan bahwa injeksi intraperitoneal quercetin dapat mempengaruhi degranulasi sel mast otak.

Kata kunci: stres, sel mast, quercetin

ABSTRACT

Kuncoro, Adi 2017. *Pengaruh Pemberian Quercetin Terhadap Degranulasi Sel*

Mast Otak Pada Tikus Wistar yang Diberi Stres Subakut. Tugas Akhir,

Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

Pembimbing: (1) dr. Obed T. K. Paundralingga, Msc (2) dr. Ali Haedar

Sp.E.M

Stress is known to be involved in several human pathological conditions, such as sleeping disorder, migraine, etc. One of the mechanisms involved is the secretion of the inflammatory mediator by the brain mast cell that undergoes degranulation in response to stress. Quercetin is known to prevent the degranulation of peripheral mast cells. Quercetin is also known to cross the blood-brain barrier.

This present study was set out to evaluate the effect of quercetin intraperitoneal injection on the brain mast cells degranulation after 4-h daily exposure to white noise stress for 14 days. Mast cells were identified with toluidine blue staining in the thalamus. Six male rats were used for each of the groups. The study shows that the amount and percentage of mast cell degranulation is smaller in rats given intraperitoneal quercetin injection compared the rats in the control group (stressed rats without quercetin administration) ($P < 0.05$). Thus, it can be concluded that intraperitoneal quercetin administration alter the amount and degranulation of brain mast cells.

Keyword : stress, mast cell, quercetin

DAFTAR ISI

Halaman Sampul Dalam	ii
Halaman Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar	v
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Grafik	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Akademik	3
1.4.2 Manfaat Praktis	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Stres	4
2.2 Sel Mast	6
2.3 Quercetin	9
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	11
3.1 Kerangka Konsep	11
3.2 Hipotesis Penelitian	12
BAB 4 METODE PENELITIAN	13
4.1 Rancangan Penelitian	13
4.2 Populasi dan Sampel	13
4.2.1 Populasi Penelitian	13
4.2.2 Sampel Penelitian	14
4.2.2.1 Kriteria Inklusi	14
4.2.2.2 Kriteria Eksklusi	14
4.2.2.3 Pengambilan Sampel	14
4.3 Variabel Penelitian	15
4.3.1 Variabel Bebas	15
4.3.2 Variabel Terikat	15
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	15
4.5 Definisi Operasional	15
4.6 Alat dan Bahan	16

Halaman

4.6.1	Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus	16
4.6.2	Alat dan Bahan Sanitasi dan Higienisasi	16
4.6.3	Alat dan Bahan Pengambilan Otak Tikus	17
4.6.4	Alat dan Bahan Induksi Stres Tikus	17
4.6.5	Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Histologi	17
4.6.6	Alat dan Bahan Penghijauan Sel Mast Otak	17
4.7	Prosedur Penelitian	17
4.7.1	Prosedur Pemeliharaan Tikus	17
4.7.2	Prosedur Pemberian Stres	18
4.7.3	Prosedur Penyuntikan Quercetin	18
4.7.4	Prosedur Pembedahan Tikus	18
4.7.5	Prosedur Fiksasi Jaringan Otak	18
4.7.6	Prosedur Embedding Jaringan Otak	18
4.7.7	Prosedur Slicing Jaringan Otak	19
4.7.8	Prosedur Staining Jaringan Otak	19
4.7.9	Prosedur Mounting Jaringan Otak	19
4.7.10	Prosedur Penghitungan Sel Mast Otak	20
4.7.11	Prosedur Pengolahan Data	20
4.7.12	Diagram Alur Penelitian	21
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	22
5.1	Hasil Penelitian	23
5.2	Analisis Data	25
5.2.1	Uji Asumsi Data	26
5.2.1.1	Uji Normalitas Distribusi Data	26
5.2.1.2	Uji Homogenitas Ragam Data	26
5.2.2	Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	26
5.2.2.1	Data Rata Rata Jumlah Total Sel Mast Otak	26
5.2.2.2	Data Persentase Jumlah Total Sel Mast Otak	27
BAB 6	PEMBAHASAN	28
BAB 7	PENUTUP	31
7.1	Kesimpulan	31
7.2	Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Data Rerata Jumlah Total Sel Mast Otak	23
Tabel 5.2 Data Rerata Persentase Degranulasi Otak	24

Halaman



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Struktur Kimia Quercetin	9
Gambar 5.1 Sel Mast Kelompok Quercetin Murni	22
Gambar 5.2 Sel Mast Kelompok Kontrol Positif	23



DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Rerata Jumlah Total Sel Mastositik	24
Grafik 5.2 Persentase Degranulasi Sel Mastositik	25

Halaman



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Keterangan Kelainan Etik.....	36
Lampiran 2 Data Statistik.....	37
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	44

Halaman



DAFTAR SINGKATAN

ADAA	Anxiety and Depression Association of America
GABA	Gamma-Aminobutyric Acid
KLH	Keyhole-Limpet Hemocyanin
CRH	Corticotropin-Releasing Hormone
CNS	Central Nervous System
HPA	Hypothalamic-Pituitary-Adrenal
IgE	Immunoglobuline E
ITAM	Immunoreceptor Tyrosine Based Motif
IP ₃	Inositol Triphosphate
DAG	Diacyl Glycerol
PKC	Protein Kinase C
GPCR	G-Protein Coupled Receptor
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
PGD ₂	Prostaglandin D ₂
HC BMC	Human Cord-Blood cultured Mast Cell
WSQ	Water Soluble Quercetin
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
NF- κ B	Nuclear Factor-Kappa B
TNF- α	Tumor Necrosis Factor - Alpha
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
	World Health Organization

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stres dan ansietas merupakan penyebab masalah tidur pada manusia di mana ansietas tersebut bisa memperparah masalah tidur manusia dewasa (ADAA, 2017). Timbulnya gangguan tidur tersebut disebabkan oleh peran caraka yang terdapat pada sistem saraf pusat, khususnya histamin. Histamin yang dihasilkan oleh neuron histaminergik di *nucleus tuberomamillaris* menggugah sistem saraf pusat melalui efek eksitatoris yang diperantarai reseptor H1 (Chikahisa et al., 2013). Histamin dari neuron histaminergik dilepaskan bersama GABA, suatu neurotransmitter inhibitor. Ini bermakna bahwa eksitasi yang dihasilkan oleh histamin dapat direm oleh inhibisi dari (*Gamma Amino-Butyric Acid*) GABA (Yu et al., 2015). Histamin juga dihasilkan saat sel mast otak mengalami aktivasi oleh stres (Alferes & Chrousos, 2014). Berdasarkan durasinya, stres dibagi menjadi stres akut dan kronis. Stres akut merupakan stres memiliki durasi beberapa menit atau jam. Sementara stres kronis merupakan stres berdurasi beberapa jam perhari selama beberapa minggu atau bulan (Dhabhar, 2009). Stres subakut didefinisikan oleh Kamus Kedokteran Dorland sebagai stres berdurasi di antara akut dan kronis. Penelitian lain mendefinisikan stres subakut sebagai stres berdurasi 15 hari (Samson, Sheeladevi, Ravindran, & Senthilvelan, 2007).

Selain gangguan tidur, sel mast otak yang terpapar stress akan mengeluarkan sitokin mediator inflamasi yang dapat menyebabkan beberapa kondisi kesehatan lain misalnya migrain (Alferes & Chrousos, 2014). Selain migrain, sel mast di sistem saraf pusat diduga berperan dalam perkembangan penyakit sklerosis multipel, yang ditandai dengan banyak ditemukannya sel mast

pada otak dan saraf tulang belakang yang mengalami demyelinasi. Pada penyakit iskemia cerebri, sel mast yang teraktivasi dapat menyebabkan rusaknya sawar darah otak, edema otak, ekstrasvasasi yang memanjang, dan perdarahan. Selain itu, sel mast yang teraktivasi juga diduga berperan dalam pembentukan aneurisma serebri (Ishibashi, Aoki, Nishimura, Hashimoto, & Miyamoto, 2010). Pada penyakit Alzheimer's, banyak ditemukan sel mast yang mengandung triptase di bagian otaknya, dan pemberian *stabilizer* sel mast ditemukan dapat menurunkan fungsi kognisi penderita penyakit Alzheimer's (Qian, 2014).

Quercetin, suatu senyawa organik golongan flavonoid polifenolik yang terdapat pada tumbuhan ketahu dapat mencegah degranulasi sel-sel mast di jaringan tubuh selain otak (Weng et al., 2012). Senyawa ini juga dapat melintasi sawar darah-otak dan bahkan memiliki efek perlindungan terhadap sistem saraf pusat. (Dajas et al., 2015). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh quercetin terhadap laju degranulasi sel mast otak tikus yang terpapar oleh stres audiogenik.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian quercetin intraperitoneal berpengaruh terhadap degranulasi sel mast otak tikus wistar yang diberi stres subakut?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian quercetin intraperitoneal terhadap degranulasi sel mast otak tikus Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Memberikan landasan informasi mengenai pengaruh quercetin terhadap penurunan degranulasi sel mast pada tikus wistar yang diberi stres subakut

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan peluang penelitian lanjutan mengenai efek quercetin terhadap penanganan penyakit yang berhubungan dengan inflamasi sistem saraf pusat.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Stres

Stres merupakan sebuah kumpulan dari kejadian yang terdiri dari rangsangan yang menyebabkan sebuah terjadinya reaksi di otak, yang mengaktifkan respon (*fight or flight*) pada tubuh (Dhabhar, 2009). Sedangkan stresor adalah segala ancaman yang aktual atau diterima, dan respon terhadap ancaman tersebut disebut dengan respon stres (Schneiderman, Ironson, & Siegel, 2008). Stres merupakan hal yang berpengaruh terhadap fungsi fisiologis manusia. Stres yang berkepanjangan dapat memiliki dampak yang berbahaya, sedangkan stres yang waktu paparannya singkat dapat memiliki fungsi adaptif yang mendukung kesehatan manusia. Oleh karena itu, berdasarkan waktu paparannya stres dibagi menjadi stres akut, subakut dan stres kronik. Stres akut didefinisikan sebagai stres yang berlangsung dalam jangka waktu menit dan satu jam, stress kronis merupakan stres yang diberikan beberapa jam per hari selama beberapa minggu atau bulan (Dhabhar, 2009). Untuk stres subakut didefinisikan oleh Kamus Kedokteran Dorland sebagai stres berdurasi di antara akut dan kronis. Penelitian lain mendefinisikan stres subakut sebagai stres berdurasi 15 hari (Samson, Sheeladevi, Ravindran, & Senthilvelan, 2007).

Stres juga memiliki dampak terhadap sistem imun makhluk hidup. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Dhabhar pada tahun 1996, diketahui bahwa stres yang dialami saat terjadinya paparan antigen primer dapat meningkatkan respon imun secara signifikan. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang menyatakan bahwa, dibandingkan dengan kontrol, tikus yang mengalami *restrain* selama 2,5 jam sebelum vaksinasi *keyhole limpet hemocyanin* (KLH) mengalami peningkatan signifikan dari sistem imun setelah mengalami paparan ulang KLH 9 bulan kemudian. Peningkatan kinerja sistem imun tersebut terjadi oleh karena kelompok tikus

tersebut mengalami peningkatan jumlah dari sel T memori dan sel T efektor pada limfonodi tikus. Penelitian yang sama juga menyatakan bahwa pemberian stres saat pemaparan ulang dari antigen dapat meningkatkan respon sekunder pada kulit (Dhabhar, 2009). Ada penelitian lain yang menyatakan bahwa stres dapat mengurangi jumlah leukosit darah (Dhabhar & Mcewen, 1997). Stres kronis dapat menyebabkan penurunan respon imun protektif yang dimediasi oleh sitokin tipe 1 dan meningkatkan aktivitas proinflamator oleh sitokin tipe 2. Penelitian yang sama juga menyatakan bahwa stres dapat mempengaruhi risiko infeksi. Studi pada laki-laki dan perempuan yang mendapat stres kronis oleh karena merawat istri atau suami yang menderita demensia menunjukkan defisit respon imun seluler dan humoral terhadap vaksin virus influenza dibandingkan dengan laki-laki dan perempuan yang tidak merawat suami atau istri yang mengalami demensia (Glaser & Kiecolt-glaser, 2005).

Jika dilihat hubungannya dengan sel mast, stres dapat menyebabkan degranulasi sel mast. Hal ini didasarkan pada penelitian yang menyatakan bahwa tikus yang mengalami immobilisasi selama 30 menit mengalami degranulasi sel mast kulit sebanyak 40.7 ± 1.9 %. Stres diketahui dapat menyebabkan degranulasi 70% dari sel mast intrakranial tikus yang diberikan stress berupa *restrain* selama 30 menit. Mekanisme terjadinya hal tersebut diperkirakan oleh karena peran CRH (*Corticotropin-Releasing Hormone*) yang dihasilkan baik oleh sel mast itu sendiri saat teraktivasi, maupun CRH yang disekresikan oleh hipotalamus melalui HPA-axis sebagai respon tubuh terhadap stres. CRH yang disekresikan akan mengaktivasi sel mast dan menyebabkan degranulasi sel mast (Kempuraj, Selvakumar, & Thangavel, 2017). Pemberian anti-CRH serum sebelum pemaparan stres dapat menyebabkan penurunan persentasi degranulasi sel mast (Singh, Pang, Alexacos, Letourneau, & Theoharides, 1999). Stres juga dapat menyebabkan aktivasi sel mast otak yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dari sawar darah otak akibat adanya kinerja dari CRH dan substansi P (Esposito et al., 2001).

2.2 Sel Mast

Sel mast pertama kali dideskripsikan oleh Paul Ehrlich pada tahun 1878 (Zayas, Jamur, & Oliver, 2014). Sel Mast adalah sel imun penting yang berasal dari diferensiasi hematopoietik tubuh yaitu berasal dari sel progenitor pluripoten CD34+/CD117+ di sumsum tulang. Sel mast berada di dalam darah dalam bentuk *committed* prekursor dan sel tersebut akan mengalami diferensiasi pada jaringan yang akan ditempatinya (Silver & Curley, 2013). Sel mast mengalami maturasi dengan dipengaruhi oleh *ligand c-kit* dan faktor sel punca dan *growth factor* yang disediakan oleh *microenvironment* dari jaringan yang nanti akan ditempati oleh sel mast tersebut (Cell, Wood, & Cell, 2016).

Sel mast pada tubuh terletak pada bagian jaringan ikat, khususnya dibawah lapisan epitel kulit, pada sistem respirasi, sistem gastro-intestinal, dan sistem perkemihan (Galli, 1996). Pada semua vertebrata, termasuk tikus dan manusia, sel mast juga terdapat pada otak, bagian cerebral dari sawar darah otak, dan juga leptomeninges. Sel pada daerah tersebut terletak di dekat bagian basal dinding pembuluh darah, pada ruangan virchow robin (Silver & Curley, 2013). Pada bagian otak, sel mast paling banyak terdapat pada talamus dan hipotalamus (Esposito et al., 2001).

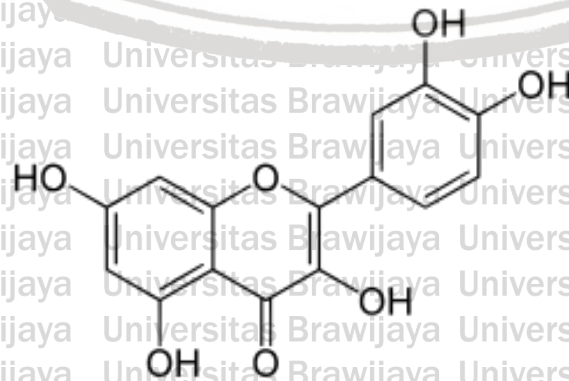
Secara histologis, sel mast dibedakan menjadi sel mast tipe 1 dan tipe 2 berdasarkan tipe granula yang terkandung pada sel mast. Pada sistem saraf pusat, sel mast tipe 1 banyak terdapat pada bagian dorsal talamus otak tikus. Dalam hubungannya dengan sel mast tipe 2, bagian-bagian sistem saraf pusat dibagi menjadi bagian yang terdapat sedikit sel mast, bagian yang intermediet, serta bagian yang kaya akan sel mast. Bagian yang kaya akan sel mast meliputi korteks cerebri, talamus, dan area yang menghubungkan dua lapisan molekuler hipokampus dan girus dentatus. Daerah yang termasuk daerah yang intermediet adalah daerah hipotalamus, corpus striatum, globus pallidus, korteks cerebellum, median raphe dan grisea dari batang otak dan korda spinalis dan leptomeninges dari otak dan *choroid fissures*. Daerah dengan jumlah sel mast paling sedikit adalah *white matter* yang terpisah dari *grey matter* (Ibrahim, 1974).

Sel mast adalah sel yang dikenal peranannya dalam mekanisme terjadinya alergi (Cell et al., 2016). Mekanisme tersering terjadinya sekresi granula yang sudah tersimpan di dalamnya adalah aktivasi melalui IgE. IgE akan menempel pada reseptor IgE yang bernama FcεRI. FcεRI merupakan reseptor yang memiliki *immunoreceptor tyrosine based motif (ITAM)*. Setelah FcεRI berikatan dengan antigen akan terjadi fosforilasi dari ITAM yang akan menimbulkan aktivasi dari protein tirosin kinase. Aktivasi dari protein tersebut menghasilkan beberapa *second messenger* misalnya inositol trifosfat (IP₃), diasilgliserol (DAG), Fosfatidilinositol, yang menyebabkan diaktivasinya protein kinase C (PKC) dan keluarnya Ca²⁺ dari retikulum endoplasma. Dikeluarkannya Ca²⁺ menuju stroma menyebabkan terbukanya kanal ion kalsium bernama ORAI1, yang menyebabkan influx Ca²⁺. Influx Ca²⁺ dan teraktivasinya protein kinase C menyebabkan berpindahnya granula menuju membran sel yang pada akhirnya akan dikeluarkan (Wernersson & Pejler, 2014). Selain melalui reseptor FcεRI, sel mast dapat teraktivasi oleh CRH melalui Corticotropin-Releasing Hormone Receptor (CRHR), dan reseptor substansi P. Kedua kaskade aktivasi tersebut melibatkan mekanisme aktivasi *G-protein Coupled Receptor (GPCR)*. Kemungkinan mekanisme degranulasinya adalah GPCR yang teraktivasi akan mengaktifkan fosfolipase C. Fosfolipase C yang teraktivasi akan memecah fosfatidilinositol 1-4-5 bifosfat menjadi DAG dan IP₃. Selanjutnya inositol trifosfat akan mengaktifasi kanal kalsium retikulum endoplasma dengan menempel pada reseptor IP₃ yang akan menyebabkan keluarnya ion kalsium menuju sitosol (Serysheva & Ludtke, 2010). Sedangkan DAG akan menstimulasi PKC. Dilihat kaitannya dengan mekanisme inflamasi, sel mast memiliki karakteristik yaitu saat teraktivasi, sel mast akan mengeluarkan produk-produk yang memediasi terjadinya inflamasi, misalnya histamin, protease, enzim lisosomal yang menyebabkan terjadinya vasodilatasi sehingga lebih banyak darah mengalir ke bagian tersebut (Cao, Cetrulo, & Theoharides, 2006; Gilfillan, Austin, & Metcalfe, 2012). Terlebih lagi, dengan adanya histamin, pembuluh darah menjadi semakin permeabel sehingga lebih banyak sel inflamasi dan produk inflamasi yang dapat masuk (imunoglobulin dan komplemen). Sel mast juga berpartisipasi dalam homeostasis akibat adanya

kejadian yang membahayakan tubuh, misalnya eliminasi dari dari benda infeksius dan berkontribusi dan perbaikan jaringan dan respon remodeling (Blank & Benhamou, 2013). Pada beberapa pada beberapa spesies yang sudah diteliti, sel mast diketahui memiliki hubungan dengan perilaku makhluk tersebut. Terdapat perubahan dari jumlah, distribusi dan tingkat aktivasi sel mast sebagai respon oleh adanya berbagai macam rangsangan dari lingkungan. Misalnya interaksi seksual, paparan dari bau badan lawan jenis, stres subordinasi kronik, stres berupa *restraint*, stres berupa isolasi, agresi dan stimulasi taktil. Fluktuasi tersebut diduga berkaitan dengan fisiologi internal dan neurohormon yang berkaitan dengan stres. Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa jumlah sel mast dan degranulasi diregulasi oleh hormon, seperti gonadal steroid, *corticotropin-releasing hormone (CRH)*, beberapa neuropeptide, dan *nerve growth factor* (Silver & Curley, 2013).

2.3 Quercetin

Quercetin merupakan satu dari 4000 fenolik tanaman yang isolasi dan identifikasi biologinya pertama kali dilakukan oleh Szent-Gyorgyi pada tahun 1936. Quercetin merupakan salah satu senyawa organik yang termasuk kedalam golongan substansi flavonoid. Quercetin memiliki rumus kimia $C_{15}H_{10}O_7$ dan nama IUPAC 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one (Dajas et al., 2015).



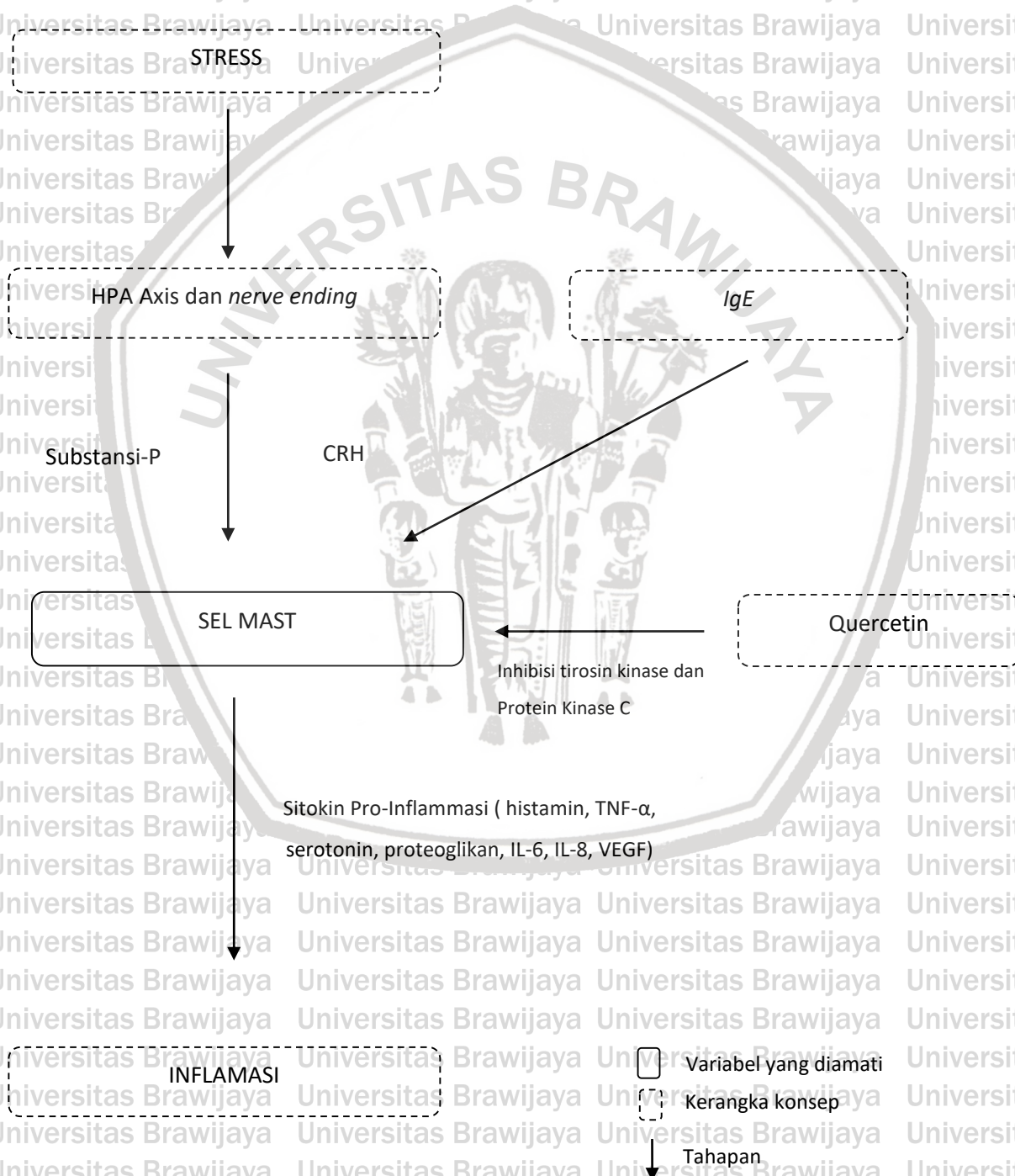
Gambar 2.1 Struktur Kimia Quercetin

Quercetin diketahui dapat menghambat keluarnya mediator inflamasi seperti histamin, prostaglandin D2 (PGD2), dan leukotrien. Pada penelitian yang dilakukan oleh Weng, et al. ditemukan bahwa preinkubasi *human cord blood-derived cultured mast cell* (HCBMCs) dengan quercetin atau *water-soluble quercetin* (WSQ) dapat menurunkan pengeluaran histamin sebesar 82% dan 87%. Penelitian yang sama juga menyatakan bahwa quercetin dan WSQ menghambat pengeluaran PGD2 sebesar 77% dan 81%. Quercetin dan WSQ menghambat pengeluaran leukotrien oleh sel mast sebesar 99% dan 99%. Pada penelitian lain yang meneliti tentang hubungan sel mast dengan dermatitis kontak, ditemukan bahwa patch test nikel pada 10 orang menimbulkan dermatitis yang bervariasi yaitu antara 1+ hingga 3+ pada 48 jam dan 120 jam setelah pemberian *patch*. Pemberian WSQ (2g/hari dalam 3 hari) sebelum kontak dengan nikel mengurangi reaksi dermatitis sebesar lebih dari 50% pada 8 dari 10 pasien dan 100 % pada 2 pasien (Weng et al., 2012). Quercetin dapat menghambat pengeluaran mediator inflamasi diduga oleh karena quercetin menghambat p38 MAPK dan Nf-kB dimana kedua hal tersebut berperan penting dalam regulasi molekul-molekul pro inflamasi dalam respon seluler. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Min et, al. pada tahun 2007 yang menyatakan bahwa pemberian quercetin mengurangi ekspresi gen dan produksi dari sitokin pro inflamasi. (Min et al., 2007). Jika dilihat hubungannya dengan mekanisme degranulasi, quercetin diketahui dapat menghambat tirosin kinase dan protein kinase lain yang mungkin berpengaruh terhadap degranulasi sel mast. (Davies, Reddy, Caivano, & Cohen, 2000). Penelitian lain juga diketahui menghambat PKC yang diketahui berperan dalam mekanisme degranulasi sel mast (Agullo et al., 1997; Ferriola, Cody, & Middleton, 1989).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Stres dapat mengaktifkan HPA axis pada tubuh manusia, dimana hipotalamus yang dipengaruhi oleh stres akan mengeluarkan *Corticotropin-Releasing Hormone (CRH)* (Daeng, Paundralingga, & Widodo, 2016). CRH diketahui akan menempel pada reseptor CRH pada sel mast yang akan menyebabkan aktivasi sel mast. Sel mast yang teraktivasi akan mengalami degranulasi yaitu pengeluaran granul-granul yang mengandung sitokin pro-inflamasi seperti histamin, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), serotoin, proteoglikan, interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) dan vascular endothelial growth factor (VEGF). Selain melalui CRH, aktivasi sel mast dapat terjadi oleh menempelnya substansi P yang dihasilkan oleh akhiran saraf. Dilepaskannya sitokin proinflamasi diatas akan mencetuskan terjadinya inflamasi pada organ yang terdapat sel mast, termasuk di dalamnya adalah otak. Selain itu, sel mast yang sebelumnya sudah berikatan dengan sel mast memiliki kemungkinan untuk masuk ke dalam SSP setelah sawar darah otak terganggu oleh aktivitas dari sitokin pro inflamasi sel mast, khususnya VEGF. Quercetin dikeathui dapat menghambat degranulasi dengan menghambat tirosin kinase dan protein kinase C. Pemberian quercetin diharapkan dapat mengurangi proses inflamasi yang terjadi oleh karena aktivitas sitokin pro-inflamasi yang diakibatkan oleh degranulasi sel mast.

3.2. Hipotesis Penelitian

H0: Pemberian quercetin tidak mengakibatkan perubahan jumlah sel degranulasi di thalamus tikus yang diberi paparan stres.

H1: Pemberian quercetin mengakibatkan perubahan jumlah sel mast dan persentase degranulasi di thalamus tikus yang diberi paparan stres.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* dengan *randomized post-test only controlled group design* pada hewan coba berupa tikus. Delapan belas ekor tikus wistar jantan yang menjalani aklimatisasi dengan siklus gelap terang masing-masing 12 jam setiap hari. Tikus tersebut dibagi secara randomisasi menjadi 3 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan (injeksi quercetin murni intraperitoneal). Semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif diberi stres audiogenik berupa suara *white-noise* dengan intensitas 80dB selama 4 jam per hari. Tikus diberi injeksi quercetin 10 mg/kgBB secara intraperitoneal setelah mengalami stress selama 2 minggu. Setelah itu, tikus dikorbankan untuk dilakukan pembedahan. Pada proses pembedahan, setiap tikus akan diambil otaknya untuk dibuat preparat histologis dengan menggunakan pewarnaan *toluidine blue* dan akan dihitung jumlah sel mast yang intak dan sel mast yang mengalami degranulasi pada preparat tersebut secara visual menggunakan mikroskop. Kegiatan tersebut dilakukan di Laboratorium Anatomi Histologi Universitas Brawijaya, Malang.

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi Penelitian

Sampel penelitian adalah model tikus (*Rattus norvegicus*, strain Wistar). Umur 4 bulan, berat 180-250 gram, dengan jumlah sampel 6 tikus untuk tiap kelompok perlakuan.

4.2.2. Sampel Penelitian

4.2.2.1. Kriteria Inklusi

- Tikus jantan strain wistar berbulu putih umur 4 bulan dengan berat badan 180-250 gram.
- Sehat dan aktif sebelum perlakuan.

4.2.2.2. Kriteria Eksklusi

- Tikus memiliki kelainan anatomis.
- Mati selama aklimatisasi dan perlakuan.

4.2.2.3. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik randomisasi. Jumlah minimal sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer yaitu $p(n-1) \geq 15$, dimana p adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah sampel per kelompok (Dahlan, 2013). Pada penelitian ini terdapat 3 perlakuan. Sehingga nilai n pada penelitian ini adalah :

$$p(n-1) \geq 15; 3n-3 \geq 15; 3n \geq 18$$
$$n \geq 6$$

jumlah sampel minimal yang dibutuhkan dalam setiap perlakuan pada penelitian ini adalah 6 sampel (Dahlan, 2013).

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas

- Kontrol negatif: kelompok tikus yang tidak mendapat paparan stres audiogenik.

- Kontrol positif: kelompok tikus yang mendapat paparan stres audiogenik tanpa perlakuan.
- Perlakuan: kelompok tikus yang mendapatkan paparan stres audiogenik dan mendapatkan injeksi quercetin murni 10 mg/kgBB secara intraperitoneal (Chan et al., 2014; Galindo et al., 2012).

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah dan persentase degranulasi sel mast otak.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Pada bulan April 2017 sampai bulan Juli 2017.

4.5 Definisi Operasional

- *Rattus norvegicus* galur wistar: Galur tikus *Rattus norvegicus* galur wistar dengan usia 4 bulan dengan berat badan 180-250 gram.
- Stres audiogenik merupakan stres berupa suara *white noise* yang memiliki intensitas suara 80dB yang diukur dengan menggunakan aplikasi pengukur intensitas suara *Soundmeter*.
- Untuk mewakili populasi sel mast, penghitungan populasi sel mast dilakukan pada 6 irisan koronal otak yang mengandung daerah talamus dengan ketebalan tiap irisan 4 mikron.
- Penghitungan sel mast otak dilakukan secara manual menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x pada daerah talamus otak tikus yang akan dibedakan antara

sel mast yang mengalami degranulasi dan tidak. Sel mast yang mengalami degranulasi ditandai dengan adanya eksositososis granul sehingga granul dapat diamati di sekitar sel mast.

- Quercetin yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Fisiologi Universitas Brawijaya.
- Stres subakut merupakan stres yang memiliki durasi 15 hari (Samson et al., 2007)

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1. Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus

Untuk pemeliharaan tikus diperlukan kandang pemeliharaan tikus yang tertutup anyaman kawat, sekam, botol minum, tempat makan dan pakan standar tikus.

4.6.2. Alat dan Bahan Sanitasi dan Higienisasi

Alat dan bahan yang digunakan adalah jas laboratorium, masker, sarung tangan, alkohol 70%, kapas, sabun antiseptik.

4.6.3. Alat dan Bahan Pengambilan Otak Tikus

Pada tahap pengambilan otak tikus, dibutuhkan gunting bedah, pot obat, alas bedah, formaldehida 10%, kloroform.

4.6.4. Alat dan Bahan Induksi Stres Tikus

Alat yang digunakan untuk proses induksi stres tikus adalah pemancar suara 80dB yang mengeluarkan suara *white noise* (Campeau & Watson, 1997), *timer* elektrik.

4.6.5. Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Histologi.

Formaldehida 10%, aceton, *xylol*, parafin cair, parafin blok, mikrotom rotari, gelas objek poly-L-lisine, Alkohol 96%, *toluidine blue*, air, entellan, gelas penutup, label, pot obat.

4.6.6. Alat dan Bahan Penghitungan Sel Mast Otak

Penghitungan sel mast otak menggunakan mikroskop cahaya dan alat tulis.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Prosedur Pemeliharaan Tikus

Tikus ditimbang lalu dimasukkan ke dalam kandang masing-masing dengan penempatan 1 kandang 1 tikus. Tikus dipelihara selama 14 hari di dalam kandang plastik berukuran 30 cm x 20 cm x 13 cm dengan tutup berupa anyaman kawat dengan alas sekam yang diganti secara rutin setiap 3 hari sekali. Tikus diberi sinar terang dan gelap masing-masing 12 jam. Tikus diberikan makan dan minum yang cukup serta situasi yang minimal paparan stres lain.

4.7.2 Prosedur Pemberian Stres

Pada fase Tikus yang berada dalam kandang akan dipapar dengan stres berupa stres suara pada fase gelap berupa suara *white noise* yang diunduh dari internet dengan intensitas 80dB selama 4 jam setiap harinya. Selain waktu pemberian stres tersebut, akses keluar masuk ruangan dijaga dengan baik agar tidak berisik.

4.7.3 Prosedur Penyuntikan Quercetin

Setelah tikus tersebut terpapar oleh stres, larutan quercetin murni dilarutkan dengan *aqueous alkali* 2.5 cc. Setelah itu larutan disuntikkan secara intraperitoneal menggunakan syringe 3cc dan jarum 26g.

4.7.4 Prosedur Pembedahan Tikus

Setelah mengalami stres 4 jam/hari selama 14 hari beserta injeksi quercetin, tikus akan dikorbankan menggunakan dislokasi servikal dan dibedah untuk diambil otaknya.

4.7.5 Prosedur Fiksasi Jaringan Otak

Jaringan otak yang sudah diambil dimasukkan kedalam formaldehida 10% selama 18-24 jam (Prosedur Operasional Standar, 2018).

4.7.6 Prosedur *Embedding* Jaringan Otak

Otak dimasukkan kedalam acetone selama 1 jam (dilakukan 4 kali dalam 4 wadah yang berbeda). Setelah itu, jaringan tersebut dimasukkan kedalam xylol selama 30 menit (dilakukan 4 kali dalam wadah yang berbeda). Kemudian jaringan otak tersebut dimasukkan ke dalam parafin cair selama 30 menit (dilakukan 4 kali dalam 4 wadah yang berbeda). Setelah itu, jaringan tersebut diletakkan ke dalam parafin blok sampai membeku (Prosedur Operasional Standar, 2018).

4.7.7 Prosedur *Slicing* Jaringan Otak

Jaringan otak yang berada parafin blok disayat dengan menggunakan mikrotom rotari dengan ketebalan 4 mikron. Kemudian sayatan tersebut diletakkan pada *water bath* (menggunakan air yang dipanaskan sampai suhu 30°C hingga merentang. Sayatan yang telah merentang tersebut lalu diambil dengan menggunakan gelas objek poly-L-lisine dan diamkan selama 24 jam (Prosedur Operasional Standar, 2018).

4.7.8 Prosedur Staining Jaringan Otak

Preparat dimasukkan pada xylol selama 15 menit (dilakukan 3 kali pada 3 tempat yang berbeda). Setelah itu preparat dimasukkan kedalam alkohol 96% selama 15 menit (dilakukan 3

kali dalam 3 wadah yang berbeda). Lalu, preparat dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Kemudian, preparat ditetesi dengan *toluidine blue* selama 20 detik. Lalu preparat dicuci dengan air mengalir 15 menit. Setelah itu, preparat direndam dalam xylol selama 15 menit. Proses tersebut dilakukan 3 kali dalam 3 wadah yang berbeda (Prosedur Operasional Standar, 2018).

4.7.9 Prosedur Mounting Jaringan Otak

Preparat yang sudah berwarna ditutup dengan kaca penutup menggunakan perekat entellan (Prosedur Operasional Standar, 2018).

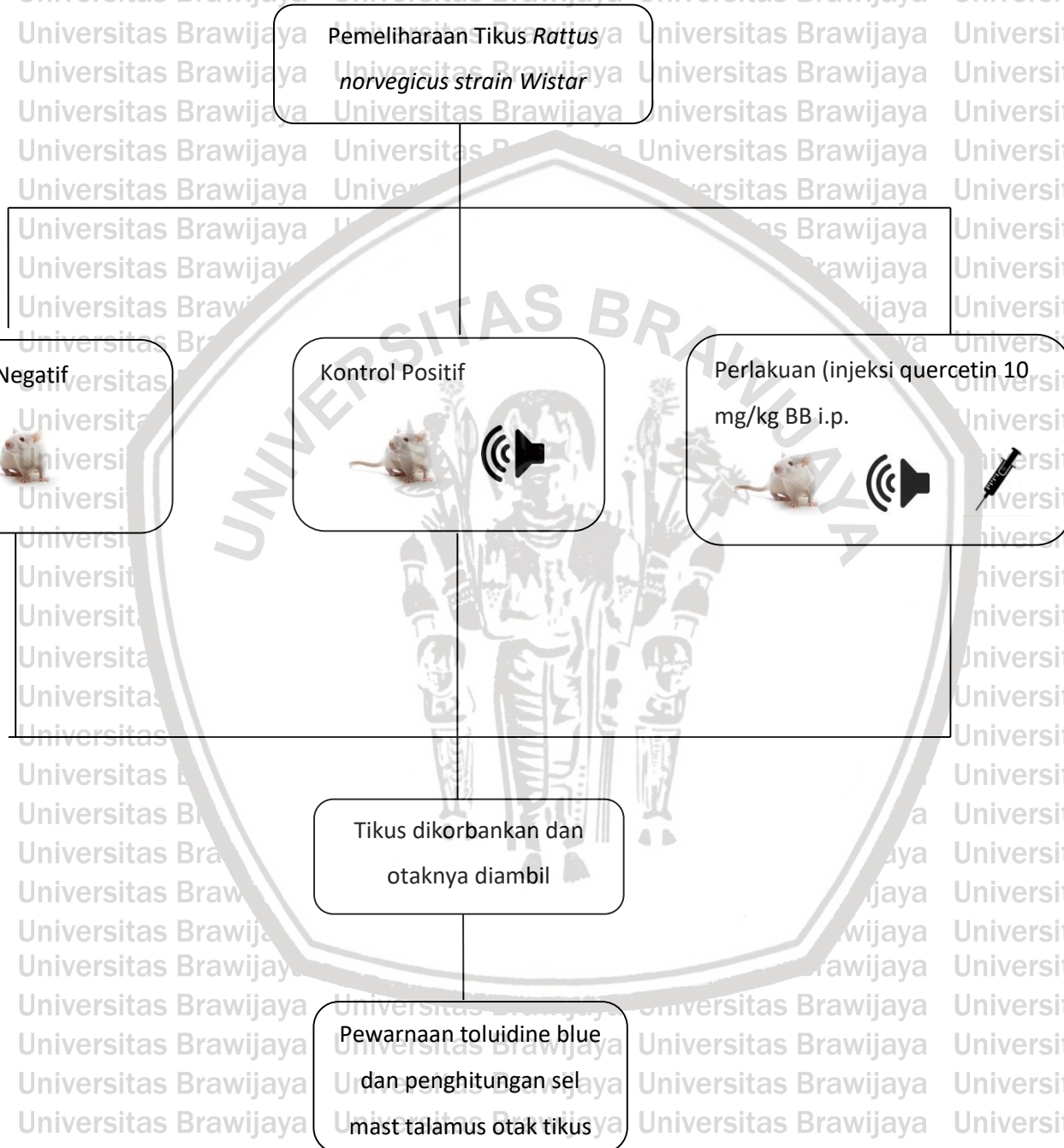
4.7.10 Prosedur Penghitungan Sel Mast Otak

Slide diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran objektif 40x dan okuler 10x. Talamus kemudian diidentifikasi dan dihitung serta dibedakan sel mast yang telah mengalami aktivasi dan belum mengalami aktivasi. Sel mast yang mengalami degranulasi ditandai oleh membran sel yang tidak intak dan terdapat granul di sekitar membran sel mast. Penghitungan sel mast dilakukan oleh 5 orang.

4.7.11 Prosedur Pengolahan Data

Pada penelitian ini didapatkan data berupa jumlah sel mast yang degranulasi dan non-degranulasi dari bagian talamus otak. dari data tersebut juga akan didapatkan data persentase degranulasi sel mast otak. jika data yang didapatkan normal dan homogen, data akan dianalisis dengan menggunakan One-way ANOVA. Jika data yang didapatkan tidak normal atau tidak homogen, maka akan digunakan uji hipotesis *Kruskall-Wallis*. Selanjutnya, akan data yang didapat akan diuji menggunakan *Mann-Whitney*.

4.7.12 Diagram Alur Penelitian



HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

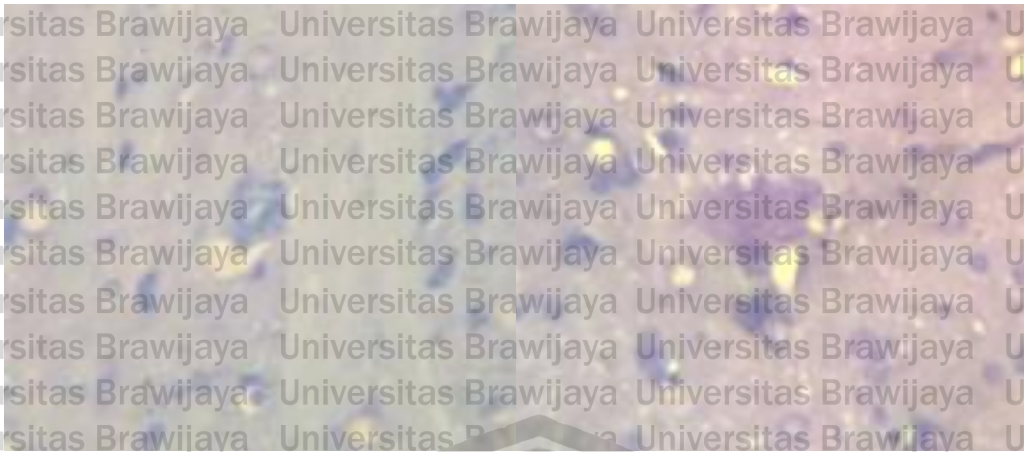
5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini digunakan untuk menentukan apakah pemberian quercetin secara intraperitoneal memberikan pengaruh terhadap jumlah dan degranulasi sel mast otak tikus

(*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diberi stres audiogenik subakut. Dalam pengamatan, akan dibedakan sel mast yang mengalami degranulasi dan tidak seperti yang terdapat pada gambar di bawah ini.



Gambar 5.1 Sel mast yang tidak mengalami degranulasi (kiri) dan sel mast yang mengalami degranulasi (kanan) dari kelompok quercetin murni.



Gambar 5.2 Sel mast yang tidak mengalami degranulasi (Kiri) dan sel mast yang mengalami degranulasi (kanan) dari kelompok kontrol positif.

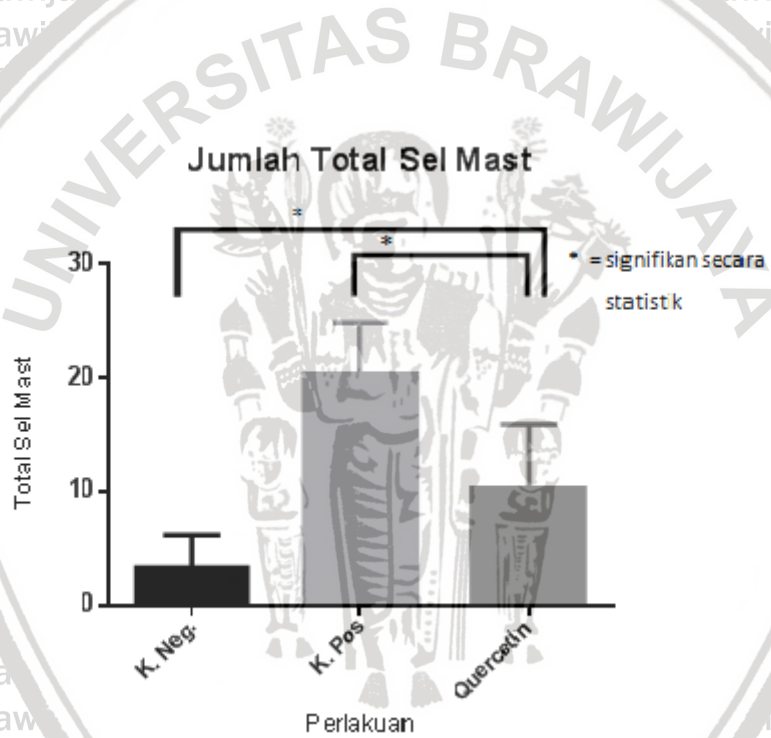
Setelah itu, dilakukan penghitungan dari sel mast yang mengalami degranulasi dan tidak mengalami degranulasi. Dari penghitungan total sel mast tersebut diambil rata-rata dan persentase sel mast yang mengalami degranulasi dari setiap kelompok perlakuan. Data rata-rata sel mast dari tiap perlakuan tersaji pada tabel 5.1 dan data persentase sel mast yang mengalami degranulasi tersaji pada tabel 5.2.

Tabel 5.1 Data Rerata Jumlah Total Sel Mast Otak

Kelompok	Rata-Rata	Standard Deviasi	Normalitas	Homogenitas
Kontrol Negatif	3.33	0.000	0.000	0.002
Kontrol Positif	20.33	2.003	0.081	0.002
Perlakuan (Quercetin)	9.67	1.381	0.004	0.002

Tabel 5.2 Data Rerata Persentase Degranulasi Sel Mast Otak

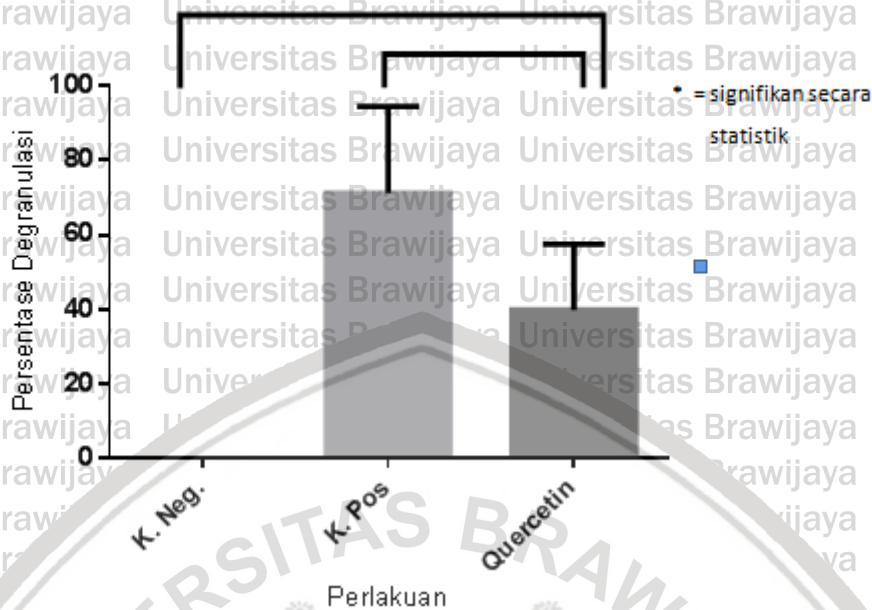
Kelompok	Rata-Rata	Standard Deviasi	Normalitas	Homogenitas
Kontrol Negatif	0.00	0.000	0.000	0.002
Kontrol Positif	65.85	34.531	0.000	0.000
Perlakuan (Quercetin)	27.31	33.131	0.000	0.000



Grafik 5.1 Grafik Rerata Jumlah Total Sel Mast

Berdasarkan grafik diatas dapat diamati bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0.05$) antara ketiga perlakuan. Yaitu sel mast pada tikus yang terdapat pada kelompok kontrol positif memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan tikus pada kedua kelompok perlakuan lainnya. Dan tikus yang berada pada kelompok quercetin murni memiliki jumlah total sel mast yang lebih sedikit dibandingkan kelompok kontrol positif.

Persentase Degranulasi Sel Mast



Grafik 5.2 Grafik Persentase Degranulasi Sel Mast

Berdasarkan grafik diatas dapat diamati bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara ketiga kelompok ($p < 0.05$). Pada kelompok kontrol positif, sel mast mengalami persentase degranulasi yang terbanyak dibandingkan dengan dengan kedua kelompok lainnya. Kelompok Quercetin memiliki persentase degranulasi sel mast yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

5.2 Analisis Data

Data pada penelitian ini dianalisis dengan SPSS versi 18 dan output analisis disertakan pada bagian lampiran.

5.2.1 Uji Asumsi Data

Sebelum data dianalisis secara statistik, data yang didapatkan perlu dilakukan uji asumsi data yaitu uji normalitas distribusi data dan uji homogenitas data.

5.2.1.1 Uji Normalitas Distribusi Data

Pada penelitian ini uji normalitas distribusi data dilakukan dengan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas dengan uji *one Shapiro Wilk* menunjukkan nilai signifikansi kedua data kurang dari α (0.05), maka data tidak berdistribusi normal yang menyebabkan pada kedua data tersebut tidak dapat dianalisis menggunakan metode *one-way ANOVA* sehingga harus dianalisis menggunakan metode *Kruskal-Wallis*.

5.2.1.2 Uji Homogenitas Ragam Data

Untuk mengetahui ada tidaknya heterogenitas ragam data, dilakukan uji homogenitas ragam data yang dilakukan menggunakan uji *Levene*. Berdasarkan uji *Levene*, didapatkan bahwa nilai signifikansi kedua data diatas kurang dari kurang dari α (0.05) yang membuktikan bahwa data tidak homogen, sehingga harus menggunakan metode *Kruskal-Wallis* untuk menganalisis data.

5.2.2 Uji Kruskal-Wallis

5.2.2.1 Data Rata-Rata Jumlah Total Sel Mast Otak

Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan nilai signifikansi $p < 0.05$. sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan rata-rata jumlah total sel mast talamus otak antara setiap kelompok perlakuan. Uji tersebut dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan antara satu kelompok perlakuan dengan yang lainnya.

5.2.2.2 Data Persentase Jumlah Total sel Mast Otak

Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan nilai sigifikansi $p < 0.05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata angka persentase degranulasi sel mast pada masing-masing perlakuan. Untuk melihat letak perbedaan antara 2 kelompok, dilakukan uji lanjut dengan uji *Mann-Whitney* yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan secara nyata antara satu kelompok perlakuan dengan yang lainnya.

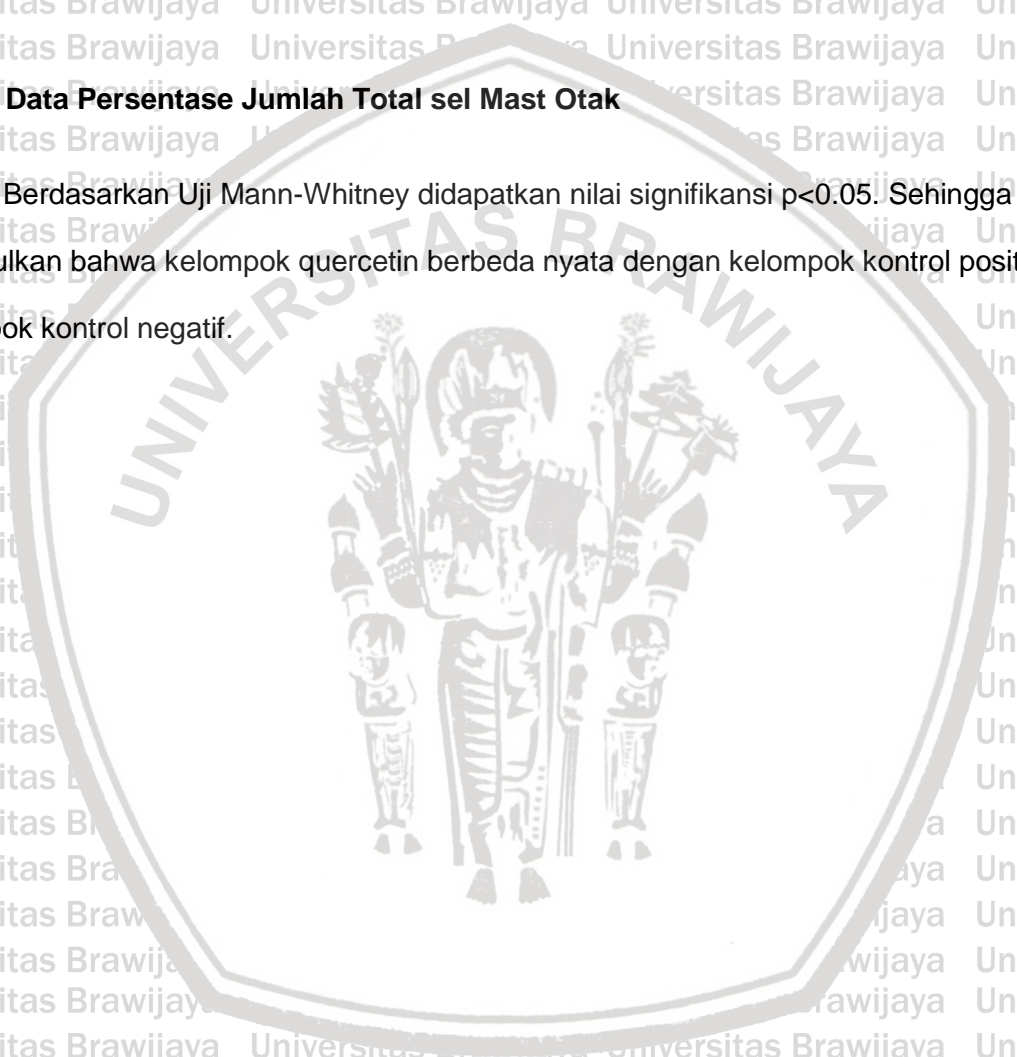
5.2.3 Uji Mann-Whitney

5.2.3.1 Data Rata-Rata Jumlah Total Sel Mast Otak

Berdasarkan Uji Mann-Whitney didapatkan nilai signifikansi $p < 0.05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok quercetin.

5.2.3.2 Data Persentase Jumlah Total sel Mast Otak

Berdasarkan Uji Mann-Whitney didapatkan nilai signifikansi $p < 0.05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok quercetin berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif.



BAB 6

PEMBAHASAN

Menurut analisa statistik *Kruskal-Wallis*, terdapat perbedaan rata-rata total sel mast antara tikus antar perlakuan. Kelompok tikus yang mendapatkan stres tanpa pemberian quercetin (kontrol positif) memiliki rata-rata jumlah total sel mast yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang mendapat pemberian quercetin secara intraperitoneal (kelompok perlakuan quercetin) dan kelompok yang tidak mendapatkan stres (kelompok kontrol negatif). kelompok tikus yang mendapat pemberian quercetin intraperitoneal memiliki rata-rata total sel mast lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak mendapat perlakuan tersebut.

Hal tersebut sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Nautiyal et al. tahun 2008 bahwa stres dapat meningkatkan jumlah sel mast. Mekanisme peningkatan jumlah sel mast tersebut diduga ada kaitannya dengan *corticotropin releasing factor* (CRF) yang dihasilkan sel mast saat mengalami aktivasi oleh stres, karena pemberian antagonis CRF mencegah timbulnya peningkatan jumlah sel mast tersebut (Kim et al., 2010). Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, diketahui bahwa aktivitas sel mast dapat dipengaruhi oleh berbagai keadaan, salah satunya adalah stres. Diketahui bahwa stres dapat menyebabkan aktivasi sel mast yang mempengaruhi jumlah sel mast dan menyebabkan sel mast mengalami degranulasi dimana peristiwa tersebut terjadi melalui sistem aksis *hypothalamus-pituitary-adrenal* (HPA axis) yang dimediasi oleh *corticotropin releasing hormone* (CRH) yang akan menempel pada reseptor yang terdapat pada sel mast. Sel mast yang mengalami degranulasi akan mengeluarkan sitokin pro-inflamasi. (Blank & Benhamou, 2013; Campeau & Watson, 1997; Cirulli, Pistillo, Acetis, Alleva, & Aloe, 1998; Esposito et al., 2001; Nautiyal, Ribeiro, Pfaff, & Silver, 2008; Nelissen et al., 2013; Singh et al., 1999; Theoharides, Asadi, & Patel, 2013).

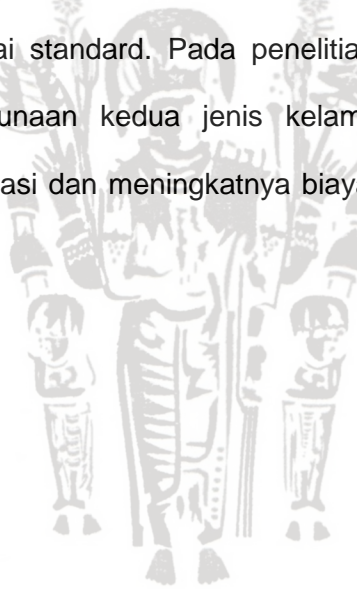
Pada analisis data persentase sel mast yang mengalami degranulasi, didapatkan bahwa terdapat perbedaan antara kelompok tikus yang mendapatkan pemberian quercetin secara intraperitoneal dengan kelompok tikus yang tidak mendapatkan pemberian quercetin (kelompok kontrol positif dan kontrol negatif). Menurut analisa statistik *Kruskal-Wallis*, tikus yang mendapatkan pemberian quercetin intraperitoneal memiliki persentase degranulasi sel mast yang lebih kecil dibandingkan tikus yang tidak mendapatkan pemberian quercetin intraperitoneal dan perbedaan ini signifikan secara statistik. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa quercetin dapat menyebabkan pencegahan degranulasi sel mast pada tubuh. (Weng et al., 2012).

Penelitian lain juga melaporkan bahwa quercetin menghambat pengeluaran histamin yang dimediasi oleh IgE. Quercetin dapat menghambat proses dari pengeluaran granule sel mast dengan cara menghambat reseptor yang berperan dalam kaskade degranulasi sel mast yaitu tirosin kinase dan PKC (Davies et al., 2000; Ferriola et al., 1989; Serysheva & Ludtke, 2010).

Selain itu, quercetin juga menghambat produksi beberapa sitokin seperti TNF- α , IL-6, IL-8 pada kultur sel mast manusia. Quercetin menghambat ekspresi dari sitokin pro inflamasi dengan cara menghambat aktivasi p38 MAPK dan NF- κ B. (Min et al., 2007). Quercetin diketahui dapat menghambat proses degranulasi sel mast di daerah selain otak dan quercetin diketahui dapat menembus sawar darah otak dan bahkan dapat memiliki efek proteksi terhadap sistem saraf pusat. Dari hasil peneitian ini, diketahui bahwa pemberian quercetin intraperitoneal pada tikus yang diberi stres subakut memiliki pengaruh terhadap sel mast otak.

Ditemukannya fakta tentang penghambatan degranulasi sel mast otak tersebut membuka peluang penelitian tentang pengobatan penyakit yang berhubungan proses inflamasi sel mast otak misalnya migraine, alzheimer's dan lainnya. Selain itu, quercetin juga dapat digunakan sebagai *stabilizer* sel mast karena *sodium cromoglycate*, obat yang sering digunakan sebagai *stabilizer* sel mast tidak dapat menembus sawar darah otak sehingga tidak dapat menimbulkan dampak pada sel mast otak dan penyakit yang berhubungan dengan inflamasi otak yang dimediasi oleh sel mast (Nautiyal et al., 2008).

Di dalam penelitian ini juga terdapat keterbatasan, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk melengkapi kekurangan yang terdapat dalam penelitian ini. Pada penelitian ini, kami menggunakan air alkali sebagai pelarut quercetin hanya berdasarkan informasi yang diberikan oleh Santa Cruz Biotechnology, dan belum ada artikel ilmiah yang pernah mendukung penggunaan air alkali sebagai pelarut quercetin murni yang akan disuntikkan secara intraperitoneal. Mungkin pada penelitian selanjutnya quercetin murni dapat dilarutkan menggunakan pelarut yang memang sudah pernah dipakai pada penelitian lainnya. Keterbatasan lainnya Di dalam penelitian ini, pengukuran suara dilakukan dengan menggunakan aplikasi di ruangan yang tidak dikhususkan untuk pengukuran intensitas suara. Di penelitian selanjutnya, sebaiknya pengukuran intensitas suara dilakukan menggunakan alat yang sesuai standar dan pengaturan ruangan yang sesuai standard. Pada penelitian ini digunakan tikus baik jantan ataupun betina dimana penggunaan kedua jenis kelamin dalam satu penelitian dapat menyebabkan meningkatnya variasi dan meningkatnya biaya untuk mendapatkan jumlah tikus yang sesuai.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dengan memberikan paparan stres audiogenik subakut kepada tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar dengan durasi 4 jam sehari selama 14 hari didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemaparan stres subakut audiogenik berdurasi 4 jam sehari selama 14 hari pada tikus menimbulkan perbedaan rata-rata jumlah total sel mast talamus otak tikus. Tikus yang hanya mendapatkan stres tanpa disertai dengan pemberian quercetin intraperitoneal memiliki rata-rata jumlah total sel mast yang lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang tidak mendapatkan stres dan tikus yang mendapatkan stres disertai dengan pemberian quercetin intraperitoneal dimana perbedaan tersebut signifikan secara statistik.
2. Pemberian injeksi quercetin intraperitoneal pada kelompok perlakuan menimbulkan perbedaan persentase degranulasi sel mast talamus otak tikus. Tikus yang mendapatkan pemberian quercetin intraperitoneal memiliki persentase degranulasi sel mast otak talamus yang lebih kecil dibandingkan dengan tikus yang hanya mendapatkan stres tanpa mendapatkan injeksi quercetin intraperitoneal.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan diatas maka diberikan saran-saran yang dapat diambil untuk melakukan penelitian lanjutan guna menyempurnakan penelitian yang telah dilakukan, yaitu sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian dengan pengukuran intensitas suara dengan menggunakan metode yang lebih terstandar.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan hanya menggunakan satu jenis kelamin hewan coba sehingga variasi penelitian lebih kecil.
3. Perlu dilakukan penelitian tentang potensi quercetin sebagai *stabilizer* sel mast sistem saraf pusat dimana fungsi stabilisasi sel mast sistem saraf pusat tidak dapat dikerjakan oleh *sodium cromoglycate* karena obat tersebut tidak menembus sawar darah otak.



DAFTAR PUSTAKA

- Agullo, G., Garnet-payrustre, L., Vi, D., Christian, R., Chap, H., & Puyrustre, B. (1997). Relationship Between Flavonoid Structure and Inhibition of Phosphatidylinositol 3-Kinase: A Comparison with Tyrosine Kinase and Protein Kinase C Inhibition, *53*(97), 1649–1657.
- Alferes, L., & Chrousos, P. (2014). Stress-Induced, *136*(12).
- Blank, U., & Benhamou, M. (2013). Deciphering new molecular mechanisms of mast cell activation, *4*(April), 2012–2013.
- Campeau, S., & Watson, S. J. (1997). Neuroendocrine and Behavioral Responses and Brain Pattern of c-fos Induction Associated with Audiogenic Stress, *9*, 577–588.
- Cao, J., Cetrulo, C. L., & Theoharides, T. C. (2006). Corticotropin-Releasing Hormone Induces Vascular Endothelial Growth Factor Release from Human Mast Cells via the cAMP / Protein Kinase A / p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway, *69*(3), 998–1006.
- Cell, M., Wood, J. G., & Cell, M. M. (2016). Mast Cell: A Multi-Functional, *6*(January), 1–12.
- Chan, S., Lin, Y., Chuang, C., Shiau, R., Liao, J., & Yeh, S. (2014). Oral and Intraperitoneal Administration of Quercetin Decreased Lymphocyte DNA Damage and Plasma Lipid Peroxidation Induced by TSA In Vivo, *2014*.
- Chikahisa, S., Kodama, T., Soya, A., Sagawa, Y., Ishimaru, Y., & Séi, H. (2013). Histamine from Brain Resident MAST Cells Promotes Wakefulness and Modulates Behavioral States, *8*(10), 1–12.
- Cirulli, F., Pistillo, L., Acetis, L. De, Alleva, E., & Aloe, L. (1998). Increased Number of Mast Cells in the Central Nervous System of Adult Male Mice Following Chronic Subordination Stress, *133*(12), 123–133.
- Daeng, B. H., Paundralingga, O., & Widodo, A. (2016). Mast Cell In Amygdala, Thalamus, Hippocampus Of Wistar Rats And Its Correlation With Corticotropin-Releasing Hormone (Crh) Plasma Level And Length, *17*(June).
- Dahlan, M. Sopiudin. 2013. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. Jakarta: Salemba Medika.
- Dajas, F., Abin-carrquiry, J. A., Arredondo, F., Echeverry, C., Martínez, M., Rivera, F., & Vaamonde, L. (2015). Quercetin in brain diseases: Potential and limits. *Neurochemistry International*.
- Davies, S. P., Reddy, H., Caivano, M., & Cohen, P. (2000). protein kinase inhibitors, *105*, 95–105.
- Dhabhar, F. S. (2009). Enhancing versus Suppressive Effects of Stress on Immune Function: Implications for Immunoprotection and Immunopathology, *5135*, 300–317.
- Dhabhar, F. S., & Mcewen, B. S. (1997). Acute Stress Enhances while Chronic Stress Suppresses Cell-Mediated Immunity in Vivo: A Potential Role for Leukocyte Trafficking, *306*(11), 286–306.
- Eposito, P., Gheorghe, D., Kandere, K., Pang, X., Connolly, R., Jacobson, S., & Theoharides, T. C. (2001). Acute stress increases permeability of the blood-brain-barrier through activation of brain mast cells. *Brain Research*, *888*(1), 117–127.
- Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2018, Prosedur Operasional Standar

Pembuatan Preparat Jaringan Otak Menggunakan Pewarna Toluidine Blue,
Malang : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

- Ferriola, P. C., Cody, V., & Middleton, E. (1989). Protein Kinase C Inhibition By Plant Flavonoids, *38*(10), 1617–1624.
- Funct, F. (2012). Food & Function Different cardiovascular protective effects of quercetin administered orally or intraperitoneally in spontaneously hypertensive rats, 643–650.
- Gilfillan, A. M., Austin, S. J., & Metcalfe, D. D. (2012). NIH Public Access, 2–12.
- Glaser, R., & Kiecolt-glaser, J. K. (2005). implications for health, *5*(March).
- Ibrahim, M. Z. M. (1974). The Mast Cells of the Mammalian Central Nervous System Part 1. Morphology , Distribution and Histochemisrly, (Ibrahim 1968), 431–478.
- Ishibashi, R., Aoki, T., Nishimura, M., Hashimoto, N., & Miyamoto, S. (2010). Contribution of Mast Cells to Cerebral Aneurysm Formation, 113–124.
- Kempuraj, D., Selvakumar, G. P., & Thangavel, R. (2017). Mast Cell Activation in Brain Injury , Stress , and Post-traumatic Stress Disorder and Alzheimer ' s Disease Pathogenesis, *11*(December), 1–15.
- Kim, D. H., Cho, Y. J., Kim, J. H., Kim, Y. B., Lee, K. J., & Lee, K. J. (2010). Stress-induced Alterations in Mast Cell Numbers and Proteinase- activated Receptor-2 Expression of the Colon: Role of Corticotrophin-releasing Factor, 1330–1335.
- Min, Y., Choi, C., Bark, H., Son, H., Park, H., Lee, S., ... Kim, S. (2007). Quercetin inhibits expression of infl ammaty cytokines through attenuation of NF- k B and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line, *56*, 210–215.
- Nautiyal, K. M., Ribeiro, A. C., Pfaff, D. W., & Silver, R. (2008). Brain mast cells link the immune system to anxiety-like behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(46), 18053–18057.
- Nelissen, S., Lemmens, E., Geurts, N., Kramer, P., Maurer, M., Hendriks, J., & Hendrix, S. (2013). The role of mast cells in neuroinflammation, 637–650.
- Qian, Y. (2014). Mast Cells and Neuroinflammation, 200–206.
- Samson, J., Sheeladevi, R., Ravindran, R., & Senthilvelan, M. (2007). Stress response in rat brain after different durations of noise exposure, *57*, 143–147.
- Schneiderman, N., Ironson, G., & Siegel, S. D. (2008). NIH Public Access, (Lacey 1967), 1–19.
- Serysheva, I. I., & Ludtke, S. J. (2010). *CHAPTER 8 3D Structure of IP 3 Receptor \$. Structure and Function of Calcium Release Channels* (1st ed., Vol. 66). Elsevier Inc.
- Silver, R., & Curley, J. P. (2013). Mast cells on the mind: new insights and opportunities. *Trends in Neurosciences*, *36*(9), 513–21.
- Singh, L. K., Pang, X., Alexacos, N., Letourneau, R., & Theoharides, T. C. (1999). Acute Immobilization Stress Triggers Skin Mast Cell Degranulation via Corticotropin Releasing Hormone , Neurotensin , and Substance P: A Link to Neurogenic Skin Disorders, *239*, 225–239.
- Theoharides, T. C., Asadi, S., & Patel, A. B. (2013). Focal brain inflammation and autism, 1–7.
- Weng, Z., Zhang, B., Asadi, S., Sismanopoulos, N., Butcher, A., Fu, X., ... Theoharides, T. C. (2012). Quercetin Is More Effective than Cromolyn in Blocking Human Mast Cell Cytokine Release and Inhibits Contact Dermatitis and Photosensitivity in Humans, *7*(3), 1–10.
- Wernersson, S., & Pejler, G. (2014). Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nature Publishing Group*, (June).

Yu, X., Ye, Z., Houston, C. M., Franks, N. P., Brickley, S. G., Wisden, W., ...
Uygun, D. S. (2015). Wakefulness Is Governed by GABA and Histamine
Article Wakefulness Is Governed by GABA and Histamine Cotransmission.
Neuron, 1–15.
Zayas, E., Jamur, M. C., & Oliver, C. (2014). *Mast Cell Function: A New Vision of
an Old Cell* (Vol. 62).





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia

Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755

<http://www.fk.ub.ac.id>

e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 205 / EC / KEPK – S1– PKM / 06 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : KUPULAS TIDUR (Mengkudu untuk Penurunan Laju Degranulasi Sel
Mast dalam Fasilitas Tidur).

PENELITI : Adi Kuncoro
Erwin Alexander Pasaribu
Sharon Thesalonica Delaney
Shaza Nathasya Sandakh
Yoris Junanto
Olivia Devina Permatasari

UNIT / LEMBAGA : S1 PKM - Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 09 JUN 2017

Ketua,

Komisi Etik Penelitian Kesehatan

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadid ES, SpS, SpBS(K), M.Hum

NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan

Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy,
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik
Penelitian (Amandemen Protokol).

LAMPIRAN 2

Hasil Pengamatan dan Penghitungan Sel Mast Kelompok Kontrol Negatif

NO.	Thalamus					
	I		II		III	
	Deg	Non	Deg	Non	Deg	Non
1A	0	0	0	0	0	0
1B	0	0	0	0	0	0
2A	0	0	0	0	0	0
2B	0	0	0	1	0	2
3A	0	1	0	1	0	1
3B	0	0	0	0	0	2
4A	0	0	0	0	0	0
4B	0	0	0	0	0	0
5A	0	2	0	0	0	3
5B	0	0	0	0	0	0
6A	0	1	0	0	0	0
6B	0	1	0	3	0	2

Hasil Pengamatan dan Penghitungan Sel Mast Kelompok Kontrol Positif

NO.	Thalamus					
	I		II		III	
	Deg	Non	Deg	Non	Deg	Non
13A	2	0	3	1	0	0
13B	6	0	3	0	4	0
14A	1	1	4	2	1	1
14B	4	1	5	2	3	1
15A	4	1	4	0	2	0
15B	1	0	2	0	3	0
16A	0	3	2	3	4	4
16B	1	4	2	1	1	1
17A	2	1	2	0	4	0
17B	1	0	2	2	2	0
18A	2	2	2	1	0	0
18B	0	2	5	3	0	1

Hasil Pengamatan dan Penghitungan Sel Mast Kelompok Quercetin Murni

NO.	Thalamus					
	I		II		III	
	Deg	Non	Deg	Non	Deg	Non
25A	0	4	1	2	1	2
25B	0	1	0	2	1	0

26A	1	1	0	1	0	0
26B	1	2	0	1	0	0
27A	1	0	3	3	1	1
27B	0	1	0	1	0	2
28A	1	1	0	2	1	1
28B	0	1	0	0	0	0
29A	1	1	2	1	2	2
29B	2	1	2	1	1	2
30A	0	0	0	0	0	0
30B	2	0	0	1	0	1



Lampiran 1. Output SPSS Uji beda rata-rata variabel% Deg dan Total

Normalitas dan homogenitas

Variabel% Deg

Tests of Normality^a

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen_Deg						
K (+)	.200	36	.001	.843	36	.000
K (MaserasiMengkudu)	.265	36	.000	.811	36	.000
K (Antihistamine)	.182	36	.004	.880	36	.001
K (Quercetin Murni)	.323	36	.000	.779	36	.000
EkstrakKasarMengkudu	.323	36	.000	.779	36	.000

a. Persen_Deg is constant when Kelompok = K (-). It has been omitted.

b. Lilliefors Significance Correction

VariabelTotal

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Total						
K (-)	.396	36	.000	.660	36	.000
K (+)	.145	36	.054	.946	36	.081
K (MaserasiMengkudu)	.191	36	.002	.879	36	.001
K (Antihistamine)	.210	36	.000	.919	36	.012
K (Quercetin Murni)	.179	36	.005	.904	36	.004
EkstrakKasarMengkudu	.179	36	.005	.904	36	.004

a. Lilliefors Significance Correction

Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Total	4.038	5	210	.002
Persen_Deg	23.300	5	210	.000

Deskriptif

Descriptives

Persen_Deg	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K (-)	36	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
K (+)	36	65.8499	34.53060	5.75510	54.1664	77.5333	.00	100.00
K (MaserasiMengku du)	36	41.8981	40.75119	6.79186	28.1099	55.6864	.00	100.00
K (Antihistamine)	36	68.8889	26.86533	4.47756	59.7990	77.9788	.00	100.00
K (Quercetin Murni)	36	27.3148	33.13100	5.52183	16.1049	38.5247	.00	100.00
EkstrakKasarMen gkudu	36	27.3148	33.13100	5.52183	16.1049	38.5247	.00	100.00
Total	216	38.5444	38.87436	2.64506	33.3308	43.7580	.00	100.00

Descriptives

Total	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K (-)	36	.5556	.90851	.15142	.2482	.8630	.00	3.00
K (+)	36	3.3889	2.00396	.33399	2.7108	4.0669	.00	8.00
K (MaserasiMengku du)	36	1.6111	1.33690	.22282	1.1588	2.0635	.00	4.00
K (Antihistamine)	36	3.2500	1.40153	.23359	2.7758	3.7242	1.00	6.00
K (Quercetin Murni)	36	1.7500	1.38099	.23017	1.2827	2.2173	.00	6.00
EkstrakKasarMengku du	36	1.7500	1.38099	.23017	1.2827	2.2173	.00	6.00
Total	216	2.0509	1.73130	.11780	1.8187	2.2831	.00	8.00

UjiKruskal Wallis

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
Total	K (-)	36	50.42
	K (+)	36	150.58
	K (MaserasiMengkudu)	36	95.64
	K (Antihistamine)	36	154.44
	K (Quercetin Murni)	36	99.96
	EkstrakKasarMengkudu	36	99.96
	Total	216	
Persen_Deg	K (-)	36	48.50
	K (+)	36	150.56
	K (MaserasiMengkudu)	36	113.53
	K (Antihistamine)	36	155.75
	K (Quercetin Murni)	36	91.33
	EkstrakKasarMengkudu	36	91.33
	Total	216	

Test Statistics ^{a,b}		
	Total	Persen_Deg
Chi-Square	72.470	83.904
df	5	5
Asymp. Sig.	.000	.000
a. Kruskal Wallis Test		
b. Grouping Variable: Kelompok		

UjiLanjut Man Whitney

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total	K (-)	36	21.75	783.00
	K (+)	36	51.25	1845.00
	Total	72		
Persen_Deg	K (-)	36	21.00	756.00

	K (+)	36	52.00	1872.00
	Total	72		

Test Statistics ^a		
	Total	Persen_Deg
Mann-Whitney U	117.000	90.000
Wilcoxon W	783.000	756.000
Z	-6.159	-6.988
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000	.000

a. Grouping Variable: Kelompok

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total	K (-)	36	26.86	967.00
	K (Quercetin Murni)	36	46.14	1661.00
	Total	72		
Persen_Deg	K (-)	36	28.00	1008.00
	K (Quercetin Murni)	36	45.00	1620.00
	Total	72		

Test Statistics ^a		
	Total	Persen_Deg
Mann-Whitney U	301.000	342.000
Wilcoxon W	967.000	1008.000
Z	-4.116	-4.634
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000	.000

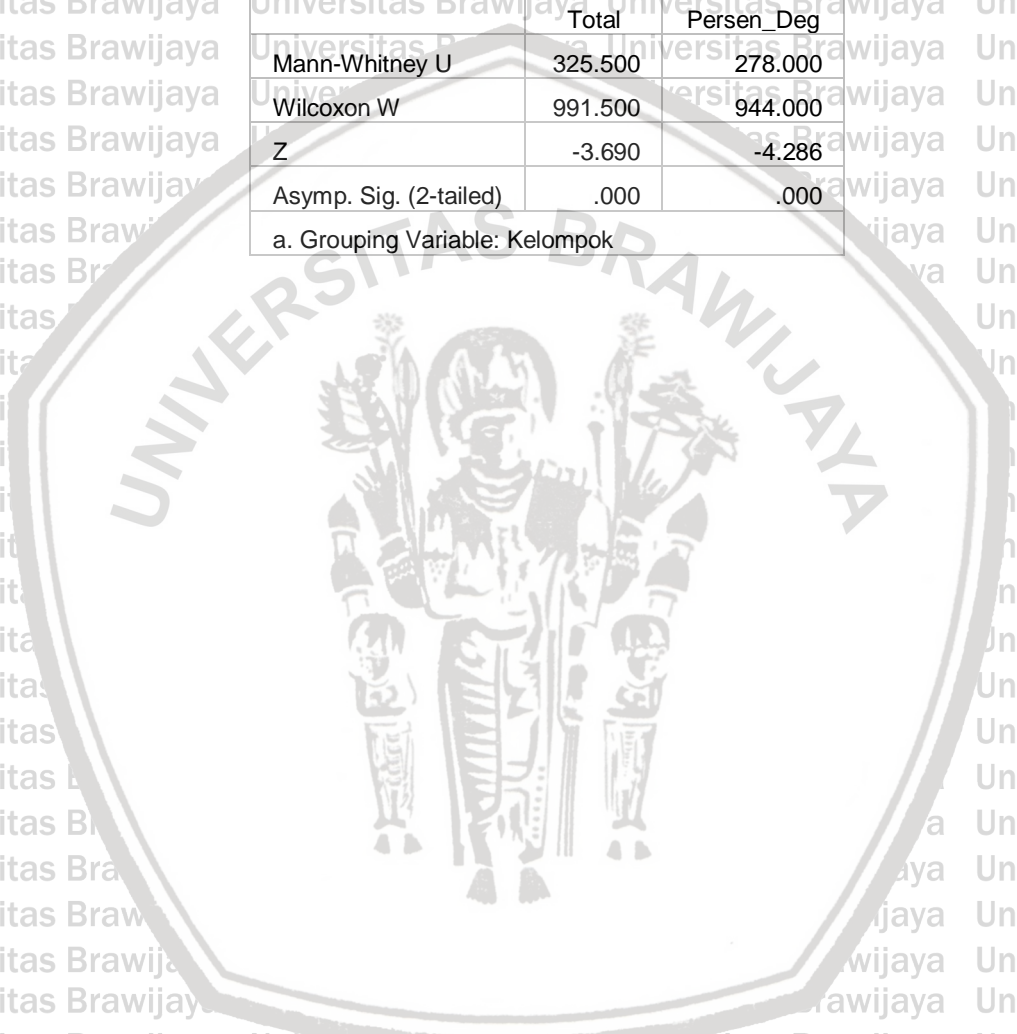
a. Grouping Variable: Kelompok

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total	K (+)	36	45.46	1636.50

	K (Quercetin Murni)	36	27.54	991.50
	Total	72		
Persen_Deg	K (+)	36	46.78	1684.00
	K (Quercetin Murni)	36	26.22	944.00
	Total	72		

Test Statistics ^a		
	Total	Persen_Deg
Mann-Whitney U	325.500	278.000
Wilcoxon W	991.500	944.000
Z	-3.690	-4.286
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000	.000

a. Grouping Variable: Kelompok



LAMPIRAN 3



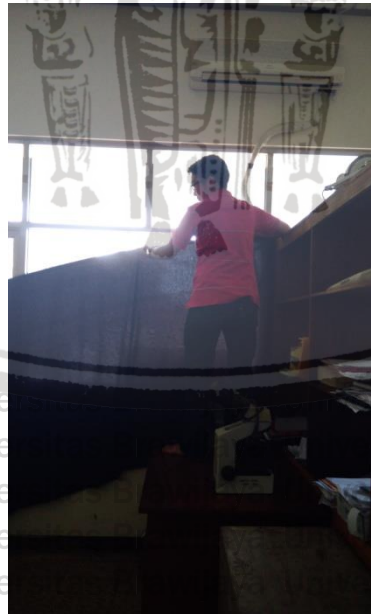
Gambar 1. Proses bimbingan penelitian oleh Pembimbing.



Gambar 2. Penyuntikan tikus secara intraperitoneal



Gambar 3. Pembedahan tikus



Gambar 4. Proses mempersiapkan pengaturan gelap terang ruangan.



Gambar 5. Preparat histologis talamus otak tikus