



## **Hubungan Jumlah Neutrofil dengan Umur Luka Memar pada Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb-C**

### ***Corelation Between Neutrophil Amount with Bruising Time in Mice (*Mus musculus*) Strain Balb-C***

Syarifah Faihaa Faisal\*, Cut Gina Inggriyani, Vera Dewi Mulia

Program Studi Pendidikan Dokter Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh-Indonesia

\*Email : [faihaafaisal.ff@gmail.com](mailto:faihaafaisal.ff@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

Neutrofil merupakan salah satu sel leukosit yang berperan dalam respon inflamasi lini pertama saat terjadi kerusakan jaringan maupun infeksi. Luka memar merupakan ekstrasvasasi darah ke jaringan akibat dari trauma tumpul. Darah yang lepas ke jaringan memicu terjadinya respon inflamasi yang salah satu tandanya adalah munculnya neutrofil yang berfungsi memfagositosis sisa-sisa sel yang nekrosis. Tujuan dari penelitian ini adalah melihat apakah terdapat hubungan jumlah neutrofil dengan umur luka memar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang dilakukan pada bulan April 2016 sampai Desember 2016 di Laboratorium Klinik dan Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Analisis yang dilakukan menggunakan uji Parametrik Regresi Kuadratik. Sampel penelitian ini berjumlah 24 ekor mencit Strain Balb-C yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol, Jam-1, Jam-3, Jam-8, Jam-24, Jam-72. Hasil dari penelitian ini didapatkan peningkatan jumlah neutrofil tertinggi pada kelompok jam-8 (68.75%) dan jumlah neutrofil terendah pada kelompok kontrol (24.75%), berdasarkan hasil uji analisis regresi kuadratik terdapat hubungan antara jumlah neutrofil dengan umur luka memar pada mencit ( $p=0,002$ ). Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah neutrofil dengan umur luka memar pada mencit.

**Kata Kunci:** Neutrofil, Umur Luka Memar

#### **ABSTRACT**

*Neutrophil is one of leukocyte cell which is the first line agent that responsible in inflammation respond when tissue damages or infections occurred. Bruise is blood extravatation to tissue because of blunt trauma. The blood that migrate to tissue trigger inflammation responds which the sign is neutrophil coming for phagocytising necrotic cells. The purpose of this research was to observe, was there any corelation between neutrophil amount with bruising time. This research was experimental research with completely randomized design that have been conducted from April 2016 until December 2016 at Clinic and Experimental Animals Laboratory of Syiah Kuala University Veterinary Faculty. The Analysis test was done by Quadratic Regression Parametric Test. The sum of sample for this research was 24 Strain Balb-C mice that were devided by 6 groups, there were control group, 1<sup>st</sup> hour, 3<sup>th</sup> hour, 8<sup>th</sup> hour, 24<sup>th</sup> hour, 72<sup>th</sup> hour group. The result found that the highest neutrophil amount was at 8<sup>th</sup> group (68.75%) and the lowest neutrophil amount was at control group (24.75%), based on the result from quadratic regression test there was corelation between neutrophil amount and bruising time in mice ( $p=0.002$ ). The conclusion of this research, there is significant corelation between neutrophil amount with bruising time in mice.*

**Keywords :** Neutrophil, Bruising Time



## PENDAHULUAN

Luka memar adalah keluarnya darah ke jaringan sekitarnya akibat dari trauma tumpul.<sup>1</sup> Luka memar merupakan kasus pemeriksaan perlukaan yang paling banyak ditangani oleh dokter baik yang bertujuan untuk penyembuhan maupun untuk kepentingan medikolegal. Kepentingan medikolegal yang dimaksud adalah membuat suatu keterangan berupa *Visum et Repertum (VeR)* yang nantinya berfungsi sebagai barang bukti di pengadilan.<sup>2</sup>

*Visum et Repertum (VeR)* adalah surat keterangan yang diminta oleh penyidik kepada polisi menyangkut perlukaan pada manusia. Isi dari *Visum et Repertum* tidak hanya memenuhi syarat-syarat rekam medis tetapi juga harus memenuhi hal-hal yang disyaratkan dalam sistem pengadilan.<sup>3</sup> Permintaan Surat *Visum et Repertum (SPV)* perlukaan merupakan salah satu kasus forensik yang terbanyak. Di Makassar tahun 2009-2010; 55% dan tahun 2010-2011; 60% dari seluruh kasus forensik dan insidensi perlukaan, jenis memar menempati urutan tertinggi dari jenis perlukaan.<sup>4</sup> Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013, tiga urutan terbanyak jenis cedera yang dialami penduduk Indonesia adalah luka lecet/memar (70,9%), terkilir (27,5%) dan luka robek (23,2%).<sup>5</sup>

Berdasarkan data di atas dapat diambil kesimpulan bahwa pembuatan *Surat Visum et Repertum (SPV)* perlukaan merupakan salah satu kasus forensik terbanyak dan jenis luka memar merupakan perlukaan yang paling banyak dialami, sehingga menentukan umur luka memar juga mempunyai hubungan erat dengan aspek medikolegal.<sup>1</sup>

Luka memar sendiri merupakan hasil dari ekstrasvasasi darah ke jaringan. Reaksi ini merupakan salah satu respon inflamasi yang ditandai dengan keluarnya neutrofil dari pembuluh darah sebagai sistem mekanisme pertahanan tubuh terhadap luka.<sup>6</sup> Neutrofil merupakan bagian dari leukosit, selain neutrofil ada beberapa sel leukosit lainnya yaitu eosinofil, basofil, monosit, limfosit dan kadang-kadang sel plasma.<sup>7</sup>

Terdapat penelitian tentang hubungan kadar *Monocytes Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)* yang berperan sebagai perantara monosit menuju tempat jejas dengan lamanya luka memar yang terjadi pada mencit. Hasilnya menunjukkan tidak terdapat perbedaan peningkatan kadar MCP-1 yang bermakna antara masing-masing kelompok waktu.<sup>8</sup> Selain itu juga telah dilakukan penelitian yang menentukan umur luka memar berdasarkan ekspresi mRNA dari tPA (*tissue-type plasminogen activator*) dan dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa ekspresi mRNA dari tPA dapat menjadi parameter yang potensial sebagai penentu umur luka memar pada fase akut.<sup>9</sup>

Berdasarkan latar belakang di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai marker lain yaitu neutrofil, salah satu sel leukosit, yang merupakan respon pertama pada suatu luka dan hubungannya dengan lamanya luka memar yang merupakan salah satu proses inflamasi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan jenis *Post Test Only Control Group Design* dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola satu arah. Penelitian dan perlakuan pada hewan coba akan dilakukan di Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Unsyiah. Pengambilan darah dan pembuatan preparat hapusan darah akan dilakukan di Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Unsyiah. Waktu yang dibutuhkan mulai dari pemilihan subjek penelitian hingga seminar hasil penelitian dimulai dari April 2016 sampai Desember 2016. Pada penelitian ini jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer<sup>27</sup> sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 24 mencit yang dibagi menjadi 6



kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok jam-1, jam-3, jam-8, jam-24 dan jam-72. Data yang diperoleh kemudian diuji menggunakan ANOVA untuk melihat apakah terdapat perbedaan atau tidak dan dilanjutkan dengan tes Regresi Kuadratik untuk melihat apakah terdapat hubungan antara dua variabel.

## HASIL

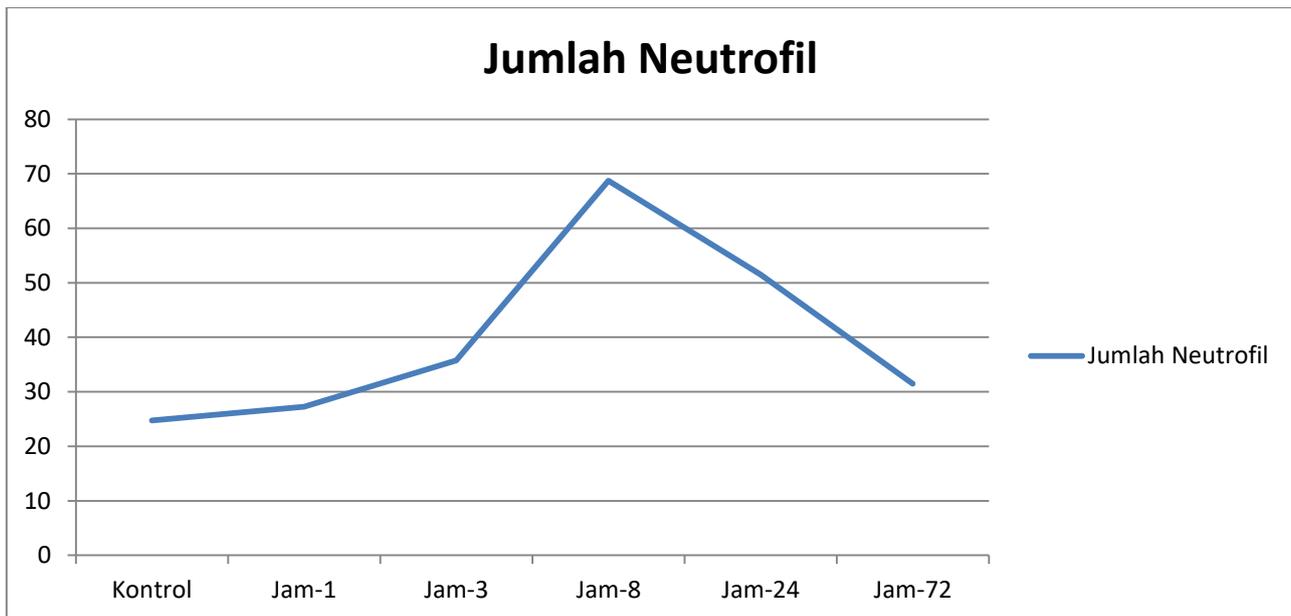
Data yang digunakan sebagai parameter penelitian ini adalah jumlah neutrophil. Jumlah neutrofil dihitung di bawah mikroskop dimulai dari pinggir atas sediaan kepinggir bawah ke kanan ke pinggir atas lagi dan seterusnya. Hal ini dilakukan terus sampai ditemukan 100 sel leukosit kemudian leukosit dihitung sesuai dengan jenisnya yang dinyatakan dalam persen. Hasil ukurnya yaitu jumlah neutrofil yang telah diperiksa di bawah mikroskop tiap kelompok waktunya dengan pembesaran 100x. Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah neutrophil didapatkan hasil bahwa jumlah neutrofil meningkat tiap jamnya dari jam-1 dan kemudian memuncak pada jam-8 dan kembali mengalami penurunan pada jam berikutnya. Hasil penelitian yang dilakukan pada 24 mencit (*Mus musculus*) strain Balb-C terhadap jumlah neutrofil yang didapat berdasarkan kelompok waktu dapat dilihat pada tabel berikut.

**Tabel 1 Jumlah Neutrofil**

	Kontrol	Jam-1		Jam-3		Jam-8		Jam-24		Jam-72	
KO <sub>1</sub>	24	K1 <sub>1</sub>	27	K2 <sub>1</sub>	37	K3 <sub>1</sub>	62	K4 <sub>1</sub>	51	K5 <sub>1</sub>	32
KO <sub>2</sub>	27	K1 <sub>2</sub>	30	K2 <sub>2</sub>	31	K3 <sub>2</sub>	71	K4 <sub>2</sub>	55	K5 <sub>2</sub>	28
KO <sub>3</sub>	19	K1 <sub>3</sub>	23	K2 <sub>3</sub>	36	K3 <sub>3</sub>	69	K4 <sub>3</sub>	47	K5 <sub>3</sub>	30
KO <sub>4</sub>	29	K1 <sub>4</sub>	29	K2 <sub>4</sub>	39	K3 <sub>4</sub>	73	K4 <sub>4</sub>	53	K5 <sub>4</sub>	36
Jumlah	99	109		143		275		206		126	
Presentase	24.75	27.25		35.75		68.75		51.5		31.5	

**Keterangan :**

- KO : Kontrol
- K1 : Perlakuan 1 (diberi perlakuan luka memar dengan lama memar 1 jam)
- K2 : Perlakuan 2 (diberi perlakuan luka memar dengan lama memar 3 jam)
- K3 : Perlakuan 3 (diberi perlakuan luka memar dengan lama memar 8 jam)
- K4 : Perlakuan 4 (diberi perlakuan luka memar dengan lama memar 24 jam)
- K5 : Perlakuan 5 (diberi perlakuan luka memar dengan lama memar 72 jam)



**Gambar 1 Rata-Rata Jumlah Neutrofil**

Gambar 1 menunjukkan Jumlah neutrofil tiap kelompok pada masing-masing waktu. Kelompok tersebut yaitu kelompok kontrol dengan rata-rata jumlah neutrofil 24.75%, kelompok jam-1 dengan rata-rata 27.25%, kelompok jam-3 dengan rata-rata 35.75%, kelompok jam-8 dengan rata-rata 68.75%, kelompok jam-24 dengan rata-rata 51.5% dan kelompok jam-72 dengan rata-rata 31.5%.

Berdasarkan data di atas dapat dilihat bahwa peningkatan jumlah neutrofil tertinggi terjadi pada jam-8 dan mengalami penurunan kembali pada jam-jam berikutnya. Analisis dengan uji *Anova* menunjukkan terdapat perbandingan jumlah neutrofil yang signifikan pada tiap-tiap kelompok waktu ( $p=0.000$ ). Analisis statistik dilanjutkan dengan uji analisis regresi kuadratik yang hasilnya menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara jumlah neutrofil dengan umur luka memar ( $p=0.002$ ), namun kekuatan dari hubungan tersebut tidak sangat kuat, melainkan cukup ( $r=0.457$ ).

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini, penulis mendapatkan adanya peningkatan jumlah neutrofil, apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok Jam-1 dapat dilihat bahwa jumlah neutrofil sudah mulai meningkat dengan kelompok kontrol. Peningkatan jumlah neutrofil tersebut memuncak pada jam-8 dan mulai menurun pada jam berikutnya. Peningkatan jumlah neutrofil yang memuncak pada jam-8 sinergis dengan hasil penelitian sebelumnya yang mendapatkan bahwa aktivasi *Tissue Plasminogen Activator* (tPA), protein pemecah bekuan darah, juga memuncak pada jam-8.<sup>9</sup> Hasil yang didapat juga sinergis dengan hasil penelitian lainnya, yaitu jumlah neutrofil meningkat pada jam ke-4 sampai jam ke-10 pada jaringan subkutan<sup>10</sup>, Hal ini dikarenakan dalam 24 jam pertama neutrofil akan bermigrasi menuju daerah yang mengalami kerusakan jaringan untuk membersihkan debris dan bakteri yang menginvasi daerah luka,<sup>11,12</sup> dengan bantuan kemokin, sitokin dan mediator lipid sehingga neutrofil dapat bermigrasi melalui pembuluh darah.<sup>13</sup>

Telah dilakukan juga penelitian tentang persentase jumlah neutrofil dan makrofag pada jaringan subkutis dan otot untuk menentukan umur luka memar pada babi dan didapatkan hasil bahwa penilaian neutrofil pada jaringan subkutis berhubungan dengan penentuan umur luka memar ( $p=0.0000$ ) dan neutrofil pada jaringan otot juga berhubungan dengan penentuan umur luka memar



( $p=0.0015$ ).<sup>10</sup> Berdasarkan penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa hasil yang didapatkan sinergis dengan penelitian yang penulis lakukan pada darah. Penelitian pendukung lain yang telah dilakukan oleh Takamiya, menunjukkan bahwa neutrofil muncul pada jaringan dermis dan subkutis dari jam pertama dan kemudian meningkat pada jam-72 dan mulai kembali normal pada jam-144.

Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa neutrofil yang merupakan sel darah putih yang berperan penting dalam respon inflamasi fase akut berhubungan dengan umur luka memar, dikarenakan memar sendiri adalah ekstrasvasasi darah ke jaringan akibat kekerasan tumpul yang juga menimbulkan respon inflamasi.<sup>14,15</sup> Berdasarkan penelitian penulis, jumlah neutrofil mengalami peningkatan dan kemudian mengalami penurunan dan kembali normal. Hasil tersebut dikarenakan neutrofil adalah sel yang jangka hidupnya pendek setelah berada di sirkulasi, pada saat tubuh tidak mengalami infeksi ataupun inflamasi, neutrofil mati secara spontan melalui cara apoptosis dalam satu sampai lima hari. Pada saat terjadi inflamasi, muncul sinyal yang dapat memperpanjang masa hidup sel neutrofil sampai beberapa hari, pada saat itu neutrofil juga mengeluarkan mediator-mediator inflamasi.<sup>6</sup>

Pada kasus perlukaan terutama pada kasus luka memar, salah satu hal yang ditinjau adalah umur luka tersebut, untuk menentukan kapan waktu peristiwa terjadi. Berdasarkan hasil penelitian di atas jumlah neutrofil dapat menjadi marker yang efektif untuk menentukan umur luka memar di bawah 24 jam, hal ini dapat membuat penentuan waktu terjadinya kekerasan ataupun terjadinya luka memar lebih spesifik untuk pembuatan *Visum et Repertum* (VeR) yang nantinya dapat digunakan sebagai bukti di pengadilan. Dengan menyimpulkan identifikasi luka secara tepat dan benar dapat mengurangi kekeliruan dan ketidakadilan bagi korban maupun pelaku tindak pidana.<sup>16,17,18</sup>

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah neutrofil dengan umur luka memar yang diteliti pada mencit Strain Balb-C.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Langlois N.E.I, Olds K, Ross C, Byard RW. Heme Oxygenase-1 and Heme Oxygenase-2 Expression in Bruises. *Forensic Sci Med Pathol*.2015;482-7
2. Amir A. Ilmu Kedokteran Forensik Edisi 2. 4th ed. Bagian Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal Fakultas Kedokteran USU Medan. 2007. p.73-81
3. Afandi D. *Visum et Repertum* Perlukaan : Aspek Medikolegal dan Penentuan Derajat Luka. *Jurnal Kedokteran Indonesia*. 2010;60(4):189
4. Bhayangkara RS. Makassar. Perlukaan 2010-2011 di Makassar. In Makassar: *Bagian forensik medikolegal unhas*; 2011.
5. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS) 2013. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan RI tahun 2013. In: *badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI tahun 2013*. 2013.p.15.
6. Mocsai A. Diverse Novel Functions of Neutrophils in Immunity, Inflammation and Beyond. *J Exp Med* [Internet]. 2013;210(7):1283-99. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3698517&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
7. Guyton A.C, Hall J.E. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 11th ed. Jakarta: EGC. 2012; 451-456.
8. Annisa, Lawrence G.S, Arsyadi G. The Correlation between Monocytes Chemoattractant Protein-1 ( MCP-1 ) Rate and The Age of Bruises Wound in Mice ( Mus Musculus ). *Universitas Hasanuddin*



*Alamat Korespondensi : Annisa Fakultas K. 2011;1:1-12.*

9. Takamiya M., Kiyoshi S, Reiko K, Nori N, Yasuhiro A. Studies on mRNA Expression of Tissue-type Plasminogen Activator in Bruises for Wound Age Estimation. *J legal Med.* 2007(119);21-26.
10. Barington K, Agger J.F.S, Nielsen S.S, Jorgensen K.D, Jensen H.E. Gross and Histopathological Evaluation of Human Inflicted bruises in Danish Slaughter Pigs. *BMC Veterinary Research.*2016(12);247.
11. Kumar V, Cotran R.S, Robbins S.L. Buku Ajar Patologi Volume 1. 7th ed. Jakarta: EGC.2013;80-83
12. Kumar V, Abbas A.K, Fausto N, Aster J.C. Pathologic Basis of Disease. 8th ed. China. Elsevier. 2010. 102-106 p.
13. Mocsai A, Walzog B, Lowell CA. Intracellular Signalling During Neutrophil Recruitment. *Cardiovasc Res.* 2015;107(3):373-85.
14. Pilling M.I, Vanezis P, Perret D, Johnson A. Visual Assessment of The Timing of Bruising by Forensic Expert. *Elsevier.* 2010(17);143-149.
15. Nathan, C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.* 2016(6):173-182.
16. Herkutanto. Kualitas Visum et Repertum Perlukaan di Jakarta dan Faktor yang Mempengaruhinya. *Majalah Kedokteran Indonesia.* 2004;54 (9):355-60.
17. Afandi D, Mukhyarjon, Roy J. The Quality of Visum et Repertum of The Living Victims In Arifin Achmad General Hospital during January 2004-September 2007. *Jurnal Ilmu Kedokteran.* 2008;2(1):19-22.
18. Afandi D. Visum et Repertum pada Korban Hidup. *Jurnal Ilmu Kedokteran.* 2009;3(2):79-84.