

Research Report

## Eksresi VEGF pada Radang Kronis Mukosa Rongga Mulut Setelah Pemberian *Fish Oil* Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

(*Expression of VEGF on Mucosal Cavity's Chronic Inflammation After Provision of Clarias Batrachus Fish Oil*)

Ni Made Titia Prabandari Iswara,<sup>1</sup> Theresia Indah Budhy,<sup>2</sup> dan Istiati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Gigi

<sup>2</sup>Staf Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga

Surabaya-Indonesia

### ABSTRACT

**Background.** Chronic inflammation can occur because the causal agent of tissue damage are settled within a long term period. If the inflammation is not resolved it will make the tissue damage wider. VEGF is one of growth factor that is necessary at the time of healing of chronic inflammation as signaling proteins in the process of angiogenesis. Fish oil *Clarias batrachus* are known to have a role as antioxidant that can accelerate the healing of chronic inflammation. **Purpose.** The aim of this study is to know expression of VEGF after provision of fish oil "ikan lele" *Clarias batrachus*. **Methods.** The study was conducted on 19 rats (*Rattus novergicus*), they were made to experience chronic mucosal inflammation by the application of hydrogen peroxide 10% and then given fish oil extracts in the third day of the treatment groups 1 and 2. Samples were decapitated on the third day after treatment and then made into preparations with IHC staining. Then the expression of VEGF counted quantitatively. **Results.** The amount of expression of VEGF in the treatment group were given fish oil extracts of catfish have higher averages 50.28 at 10% concentration, 32.71 at 5% concentration compared with the control group was 13.60. **Conclusion.** Fish oil extracts of catfish (*Clarias batrachus*) can increase the expression of VEGF in chronic inflammation condition at 10% level of concentration.

**Keywords:** Chronic inflammation, VEGF, fish oil, *Clarias batrachus*.

Korespondensi (*correspondence*): Ni Made Titia Prabandari Iswara, Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: sesyayu@gmail.com.

### PENDAHULUAN

Radang merupakan reaksi alamiah tubuh berupa respon vaskuler dan seluler sebagai reaksi terhadap adanya jejas.<sup>1</sup> Radang terdiri dari dua fase, fase akut dan fase kronis. Radang akut dapat menjadi radang kronis jika dengan respons akut tidak dapat terselesaikan. Radang kronis dapat terjadi karena agen penyebab terjadinya kerusakan jaringan menetap dalam waktu yang lama. Proses radang tidak boleh berlangsung lama karena dapat mengganggu bahkan menghambat regenerasi dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih luas.<sup>2</sup> Keadaan radang yang berkepanjangan dan melibatkan kerusakan jaringan yang luas

merupakan suatu peradangan yang bersifat kronis. Pada kondisi peradangan yang kronis secara progresif aliran darah akan melambat dan menyebabkan terjadinya iskemia.<sup>3</sup>

Angiogenesis merupakan proses yang penting dalam penyembuhan luka. Angiogenesis distimulasi dan diatur oleh berbagai macam sitokin dan *growth factors*. Salah satu *growth factor* yang menstimulasi proses angiogenesis yaitu *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). VEGF merupakan faktor angiogenik poten yang dihasilkan oleh endotel, yang bertanggung jawab terhadap peningkatan permeabilitas (vasodilatasi) dan pembentukan pembuluh darah baru

(angiogenesis) selama proses penyembuhan luka.<sup>4,5</sup>

*Fish oil* telah banyak diketahui memiliki efek antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan imunomodulator.<sup>6</sup> *Fish oil* yang beredar di masyarakat terbuat dari makarel, tuna, salmon dan dari lapisan lemak ikan paus. Ikan tersebut sulit dibudidayakan dan harganya cukup mahal.<sup>7</sup> Ikan lele yang merupakan ikan yang mudah ditemui di perairan Indonesia dan belum banyak diteliti.

Ikan lele termasuk ikan konsumsi air tawar yang sangat digemari oleh masyarakat Indonesia. Ada beberapa jenis ikan lele salah satunya adalah Lele Lokal (*Clarias batrachus*), lele ini mudah dibiakkan dan banyak di budidayakan terutama di Indonesia.<sup>7</sup>

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa *fish oil Clarias batrachus* memiliki kadar omega-3 tertinggi jika dibanding dengan ikan tawar lainnya, ikan laut dan udang dengan kadar 28% dari total *fatty acid*.<sup>8</sup> Selain itu, di dalam ikan lele mengandung sejumlah nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh yaitu protein, kalsium, fosfor dan berbagai mineral.<sup>9</sup>

Omega 3 diketahui memiliki peran penting dalam mengurangi respon peradangan. Saat ini berkembang penelitian mengenai *fish oil* sebagai terapi pada berbagai penyakit. Kamat dan Roy<sup>10</sup> telah melaporkan bahwa *fish oil* ikan lele (*Clarias batrachus*) dapat meningkatkan SOD pada dosis 0,17 ml dengan konsentrasi 10% pada tikus yang diinduksi alloxan. Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian *fish oil* ikan lele (*Clarias batrachus*) terhadap ekspresi VEGF pada mukosa rongga mulut dengan radang kronis. Maka hasil tersebut digunakan sebagai acuan penentuan konsentrasi pada penelitian ini. Penelitian ini menggunakan konsentrasi 5% dan 10%. Diharapkan penelitian ini dapat melihat ekspresi VEGF pada radang kronis mukosa rongga mulut.

## BAHAN DAN METODE

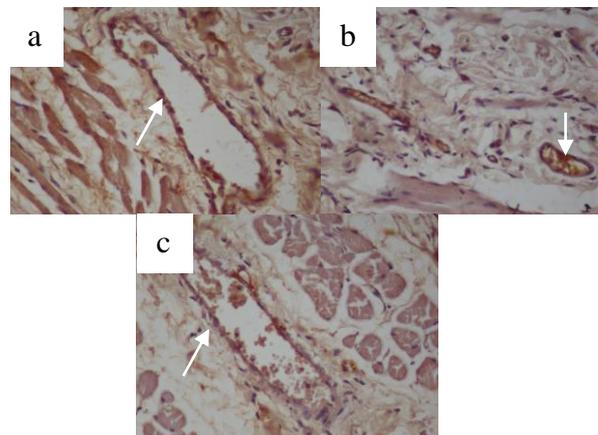
Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen laboratorium dengan *post test only control group design* yang telah mendapatkan *ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi. Pada penelitian ini menggunakan sampel 19 ekor tikus wistar jantan (*Rattus Norvegicus*) dengan kondisi sehat, berumur kurang dari satu tahun dengan berat 250 gram. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 yang diberi *fish oil* ikan lele konsentrasi 5% dan

kelompok perlakuan 2 yang diberi *fish oil* ikan lele konsentrasi 10%. Tikus diaklimatisasi selama tujuh hari kemudian diberi sayatan pada mukosa bukal dan dibuat radang kronis dengan aplikasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% sebanyak 2 kali sehari 2-3 menit selama 3 hari berturut-turut. Pada hari ketiga diberikan *fish oil* pada kelompok perlakuan 1 dan 2. Pada hari keenam, tikus didekapitasi dan diambil jaringan pada area perlukaan kemudian dilakukan pengecatan imunohistokimia. Sel endotel yang mengekspresikan VEGF (warna coklat) dihitung dengan perbesaran 400x.

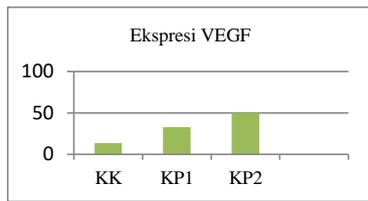
Data hasil penelitian yang didapatkan, dilakukan analisis data menggunakan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test*, uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic Test* dan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey* untuk mengetahui konsentrasi terbaik dalam meningkatkan VEGF.

## HASIL

Hasil penelitian menunjukkan ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan yang diberi 10% *fish oil* memiliki jumlah ekspresi VEGF yang paling banyak dibanding kelompok perlakuan 5% dan kelompok kontrol.



**Gambar 1.** Ekspresi VEGF pada pembesaran 1000x. a. Ekspresi VEGF pada kelompok kontrol, b. Ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan dengan pemberian 5% fish oil, c. Ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan dengan 10% fish oil.



**Gambar 2.** Grafik Ekspresi VEGF.

Pada uji normalitas dengan menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh hasil seluruh kelompok penelitian mempunyai nilai signifikan yang lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) yang berarti data penelitian pada seluruh kelompok perlakuan berdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas *Levene*. Pada uji ini didapatkan nilai signifikan sebesar 0,135 sehingga dapat dikatakan varians antar kelompok bersifat homogen.

Kemudian dilakukan uji parametric menggunakan uji *one way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna atau tidak antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

**Tabel 1.** Hasil uji *one way ANOVA* ekspresi VEGF

	Kelompok Kontrol	KP1	KP2
Kelompok kontrol	-	.005*	.000*
KP1	.005*	-	.005*
KP2	.000*	.005*	-

Keterangan : (\*) = Perbedaan bermakna

Pada tabel tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antar kelompok. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 ( $p=0,005$ ), kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2 ( $p=0,000$ ), kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 ( $p0,005$ ).

Selanjutnya dilakukan uji *Tukey* untuk mengetahui konsentrasi terbaik dalam meningkatkan ekspresi VEGF pada radang kronis mukosa rongga mulut.

**Tabel 2.** Hasil uji *Tukey* setiap kelompok perlakuan.

<i>Tukey Test</i>	Rata-rata
Kelompok kontrol	13,60
Perlakuan 1	32,71
Perlakuan 2	50,28

Dari tabel uji *Tukey* didapatkan kelompok perlakuan 2 memiliki jumlah ekspresi VEGF paling banyak.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui manfaat dari *fish oil* ikan lele (*Clarias batrachus*) dalam bidang kedokteran gigi. *Fish oil* yang beredar di masyarakat umumnya berasal dari ikan yang sulit di budidayakan dan harganya cukup mahal. Ekstrak *fish oil* ikan lele *C.batrachus* dipilih karena ikan lele mudah di budidayakan di Indonesia serta *fish oil* ikan lele telah banyak diketahui memiliki peran sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan imunomodulator.<sup>6</sup> Menurut Chedoloh *et al*<sup>8</sup> di dalam *fish oil* ikan lele terdapat *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dimana *fatty acid* pada ikan lele mengandung omega-3 yang diketahui memiliki kadar tertinggi jika dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya, ikan laut dan udang dengan kadar 28% dari total *fatty acid* yang diketahui dapat mengurangi inflamasi sehingga menguntungkan untuk dikonsumsi. Pada penelitian ini digunakan ikan lele yang dibiakkan dengan diberi pakan organik sehingga terjaga kualitas gizinya.

Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan VEGF dibanding dengan kelompok yang tidak diberi *fish oil Clarias batrachus*. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 dan 2. Dengan menggunakan uji *Tukey*, didapatkan hasil kelompok perlakuan 2 dengan pemberian *fish-oil* ikan lele (*Clarias batrachus*) konsentrasi 10% memiliki jumlah ekspresi VEGF paling banyak. Hal ini diduga karena pemberian *fish oil* yang mengandung omega 3 PUFA memiliki peran sebagai antioksidan.<sup>6</sup>

VEGF merupakan *growth factor* yang bertanggung jawab terhadap peningkatan permeabilitas (vasodilatasi) dan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis). VEGF dapat meningkatkan angiogenesis pada proses

penyembuhan luka. VEGF ini bekerja secara langsung dengan menstimulasi proliferasi dan migrasi sel endotel dan secara tidak langsung dengan melibatkan sel lain yang juga turut berperan dalam proses angiogenesis.<sup>5</sup>

Menurut penelitian Turgeon *et al*<sup>11</sup> konsumsi *fish oil* dapat meningkatkan neovaskularisasi dalam merespon adanya iskemia dimana mekanisme potensial yang terlibat yaitu pengaktivasian jalur VEGF. Ketika ada suatu keadaan jejas berkepanjangan akan terjadi iskemia. Iskemia merupakan suatu keadaan dimana berkurangnya aliran darah yang dapat menyebabkan perubahan fungsional dari sel normal, dimana kondisi iskemia ini akan meningkatkan nitric oxide yaitu oksigen radikal bebas, yang apabila dibiarkan akan terjadi kerusakan jaringan yang lebih luas.

Pemberian *fish oil C.batrachus* diketahui mampu mengaktifkan *inhibitory nitric oxide* pada sel endotel, dimana *inhibitory nitric oxide* merupakan mediator yang menghambat nitric oxide dan mempunyai fungsi menurunkan nitric oxide, kondisi ini akan menyebabkan pro-inflammatory cytokine meningkat.<sup>12</sup> Pro-inflammatory cytokine merupakan suatu mediator radang yang di perlukan dalam proses penyembuhan. Salah satunya adalah Interleukin-8. Peningkatan Interleukin-8 ini diketahui mampu mempengaruhi induksi NFkB yang mengativasi peningkatan regulasi VEGF.<sup>13</sup> Hal ini dapat mendorong terjadinya angiogenesis yang nantinya akan mendukung terjadinya perbaikan jaringan pada mukosa rongga mulut.

Peningkatan ekspresi VEGF pada kelompok perlakuan yang diberi *fish oil* ikan lele dengan konsentrasi 10% menunjukkan bahwa *fish oil* ikan lele dapat berperan dalam meningkatkan angiogenesis.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Celloti, F & Laufer, S. *Inflammation, Healing, and Repair Synopsis. J. Phar. Res.* 2001.Vol. 43. No. 5.
2. Calder P. *Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Processes:New Twists In an Old Tale.* Braz J Med Biol Res. Vol 31(4). 2009.pp 791-5
3. Woodruff, Trent M. *Pathophysiology, Treatment, an Animal And Cellular Models of Human Ischemic Stroke. Mol Neurodegener.* 2011.p 11
4. Lawrence WT, *Wound Healing Biology and Its Application To Wound Management.* Dalam : O'leary P, Penyunting. *The Physiologic Basis Of Surgery.* Edisi ke-3. Philadelphia: Lippincott Williams & wilkins. 2002.p.107-32

5. Istiati. *Regenerasi dan Penyembuhan.* Jakarta: Sagung Seto. 2013.
6. Hall JA, Chinn RM, Vorachek WR, Gorman ME, Greitl JL, Joshi DK, Jewell DE. *Influence of Dietary Antioxidants and Fatty Acids On Neutrophil Mediated Bacterial Killing and Gene Expression In Healthy Beagles.* Vet Immunol Immunopathol. 15. 139(2-4). 2011. Pp 217-28
7. Suyanto S, Rachmatun Ny. *Budidaya Ikan Lele.* Jakarta: Penebar Swadaya. 2008. Pp:9-19
8. Chedoloh, Karrila and Pakdeechanuan. *Fatty acid composition of important aquatic animals in Southern Thailand.* Internation Food Research Journal 18. 2011. 783-790
9. Islam, R., Mondol, L.K., Sheikh, L., Rahman, S.S., Islam, M., Rahman, A. *Identification of Fatty Acid Profile, Lipid Characterization and Nutritional Status Of Clarias Batrachus. Nutritional Science And Food Technology.* Available at : Herbert Open Access Journal. 2013.Pp. 1-6.
10. Kamat, S.G., Roy, R. *Evaluation of Antioxidant Potential of Clarias batrachus Oil In Alloxan Induced Diabetic Mice (Mus Musculus).* Diabetes & Metabolism. Vol. 6, no.6. 2015.pp 1-6
11. Turgeon J, Dussault S, Maingrette F, Groleau J, Haddad P, Perez G, Rivard A. *Fish Oil-Enriched Diet Protects Against Ischemia By Improving Angiogenesis, Endothelial Progenitor Cell Function And Postnatal Neovascularization.* Elsevier Ireland. 2013. Pp 295-303.
12. Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. *Basic Pathology 7<sup>th</sup> Edition.* Philadelphia: Elsevier Saunders. 2003. pp 50-51
13. Martin D, Galisteo R, Gutkind JS. *CXCL8/IL-8 Stimulate VEGF Expression and the Autocrine Activation Of VEGFR2 in Endothelial Cells by Activating NFkB trough the CBM (Carma3/Bcl10/Malt1) Complex.* J Biol Chem. 2009. Pp: 6038-042.