

**PENGARUH MINYAK IKAN TERHADAP
JUMLAH SEL OSTEOLAST TULANG ALVEOLAR
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI
*AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS***

SKRIPSI



Oleh:

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Meiliana

NIM: 020710156

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA BHMN
SURABAYA
2010**

- fish oil
- OSTEOPlast
- bon Alveolar

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH MINYAK IKAN TERHADAP
JUMLAH SEL OSTEOLAST TULANG ALVEOLAR
TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI
AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga Surabaya

Oleh:

Meiliana

NIM: 020710156

Menyetujui

Pembimbing Utama

Dr. Ernie M.S., drg., M.Kes., Sp Perio(K)
NIP. 196602121992032001

Pembimbing Serta

Lambang B., drg., Sp Perio
NIP. 132320182

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA BHMN
SURABAYA
2010**

KATA PENGANTAR

Tiada kata yang pantas diucapkan kecuali puji syukur pada Tuhan Yang Maha Esa atas selesainya penyusunan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Terhadap Jumlah Sel Osteoblast Tulang Alveolar Tikus Wistar yang Diinduksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*”, karena berkat rahmat dan kuasa-Nya maka kami dapat menyelesaikan skripsi ini.

Tanpa ada bantuan dari pihak yang terkait, maka kami akan mengalami hambatan dalam penyelesaian skripsi ini, dengan ini kami ingin menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penyelesaian penyusunan skripsi ini baik secara material maupun spiritual, antara lain sebagai berikut :

1. Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat, drg.,SU.,Sp. BM (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
2. Prof. Dr. H. Ruslan Effendy, drg., MS.,Sp. KG (K), selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
3. Iwan Ruhadi, drg., MS., Sp. Perio (K), selaku Ketua Departemen Ilmu Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberi izin untuk pembuatan skripsi dan juga selaku penguji

- yang telah banyak membantu dalam memberikan bimbingan arahan dan kritikan dalam penyusunan skripsi.
4. Dr. Ernie Maduratna Setiawatie, drg., M.Kes., Sp. Perio (K), selaku pembimbing pertama yang telah banyak membantu dalam memberikan bimbingan, arahan, dan kritikan dalam penyusunan skripsi ini.
 5. Lambang Bargowo, drg., Sp. Perio, selaku pembimbing kedua yang telah banyak membantu dalam memberikan bimbingan, arahan, dan kritikan dalam penyusunan skripsi ini.
 6. Poernomo Agoes W.,drg.,MS.,Sp. Perio (K), selaku penguji yang telah banyak membantu dalam memberikan bimbingan, arahan, dan kritikan dalam penyusunan skripsi ini.
 7. Noer Ulfah, drg., Sp. Perio (K), selaku penguji yang telah banyak membantu dalam memberikan bimbingan, arahan, dan kritikan dalam penyusunan skripsi ini.
 8. Tantina, drg., M Kes, selaku dosen wali yang telah memberikan dukungan hingga terselesainya penyusunan skripsi ini.
 9. Joni Susanto, dr. M Kes, atas bantuannya dalam menganalisa sel osteoblast.
 10. Rini Devijanti, drg. M Kes, atas bantuannya dalam memperoleh bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan saran-sarannya.
 11. Pak Heri Susanto, atas bantuannya dalam memelihara dan menjaga hewan percobaan untuk penelitian.
 12. Bu Wahyu, atas bantuannya dalam mengembangbiakan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

13. Pak Yietno, atas bantuannya dalam mengelolah sediaan jaringan.
14. Mba Weni, atas bantuannya dalam analisa hasil data penelitian.
15. Mba Noer Faridah, atas bantuannya dalam mengelola dan mencarikan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
16. Mba Anis, atas bantuannya dalam skripsi ini.
17. Papa, mama, koko, titi, cece yang telah memberikan dukungan moral, materi, dan support hingga terselesainya penyusunan skripsi ini.
18. Atika, Diana, Nadia, Raisa, Rianita, Lianty, Ratna, dan Haifak sebagai teman seperjuangan skripsi perio.
19. Anak kos Dh 4-7, happy tour, Merry, Lia, dan teman-temanku yang lain.
20. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Kami sadar bahwa skripsi ini tidak lepas dari kekurangan dan ketidaksempurnaan, oleh karena itu kami memandang perlu adanya kritikan dan saran untuk kebaikan skripsi ini serta demi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Kedokteran Gigi khususnya Periodonsia.

Surabaya, Januari 2011

Penulis

**PENGARUH MINYAK IKAN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAST
TULANG ALVEOLAR TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI
AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS**

**(FISH OIL EFFECT ON OSTEOLAST CELLS NUMBER OF WISTAR
RATS ALVEOLAR BONE INDUCED AGGREGATIBACTER
ACTINOMYCETEMCOMITANS)**

ABSTRACT

Background. Destruction of alveolar bone happen in periodontal disease. Periodontal disease is certainly involved with cytokines, chemotactic factors and inflammatory cells. So we need therapy to overcome this inflammatory mediators of destruction bone. Fish oil recently has been proved to be good for bone health and it can lower the level of inflammatory mediators. *Purpose.* The aim of this study was to prove an increased number of osteoblast cells from wistar rat alveolar bone induced *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* that had been given fish oil. *Method.* 27 male wistar rats were divided into three study groups : control, Aa, and Aa with fish oil. In Aa group, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria was given in first, third, fifth day of one month experiment. In Aa with fish oil group was given either *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria and fish oil. At the end of one month, the rats were sacrificed, the alveolar bone tissue were dissected and extracted, and the extracts were analyzed for osteoblast level by microscope. *Result.* Aa group resulted in significantly reductions in the alveolar bone tissue level of osteoblast than the control ($p < 0.05$). Aa with fish oil group show significant elevation of osteoblast compared to Aa group ($p < 0.05$). *Conclusion.* Aa with fish oil show significant elevation on osteoblast cells number of wistar rats alveolar bone induced *Aggregatibacter actinomycetemcomitan*.

Key words : fish oil, *Aggregatibacter actinomycetemcomitan*, osteoblast, periodontal disease

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan.....	2
1.4. Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Periodontitis.....	4
2.2. Tulang.....	5
2.2.1. Sel-sel Tulang.....	5
2.2.2. Proses Resorpsi dan Pembentukan Tulang.....	7
2.3. Minyak Ikan.....	8
2.3.1. Klasifikasi Minyak Ikan.....	8
2.3.2. Manfaat Minyak Ikan.....	9
2.4. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	11
2.5. Terapi Modulasi Host.....	12

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	14
3.1. Kerangka Konseptual Penelitian.....	14
3.2. Hipotesis Penelitian.....	14
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	15
4.1. Jenis Penelitian.....	15
4.2. Kriteria Sampel.....	15
4.3. Besar Sampel.....	15
4.4. Variabel Penelitian.....	16
4.5. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	16
4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	17
4.7. Alat dan bahan Penelitian.....	17
4.8. Cara Kerja dan Alur Kerja Penelitian.....	18
4.9. Analisis Data.....	26
4.10. Bagan dan Alur Kerja.....	27
BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	28
5.1 Data Penelitian.....	28
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian.....	30
BAB 6. PEMBAHASAN.....	32
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
7.1. Kesimpulan.....	37
7.2. Saran.....	37

DAFTAR PUSTAKA.....38

LAMPIRAN.....42

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nilai Mean dan Standar Deviasi Jumlah Osteoblast Pada Tikus Kelompok Kontrol, <i>A. actinomycetemcomitans</i> , dan Aa+Minyak Ikan.....	28
Tabel 2. Perhitungan LSD Deviasi Jumlah Osteoblast Pada Tikus Kelompok Kontrol, <i>A. actinomycetemcomitans</i> , dan Aa+Minyak Ikan.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Osteoblast, Osteosit, dan Osteoklas.....	7
Gambar 4.1 Minyak Ikan Dalam Kemasan.....	17
Gambar 4.2 Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	20
Gambar 4.3 Pemberian Bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ...	20
Gambar 4.4 Pemberian Minyak Ikan.....	21
Gambar 4.5 Tikus Dibius Dengan Ether Dosis Lethal.....	21
Gambar 4.6 Proses Pengambilan Mandibula Tikus.....	22
Gambar 4.7 Potongan Mandibula Dalam Larutan Formalin.....	22
Gambar 4.8 Mikroskop Cahaya yang Terhubung dengan Komputer.....	25
Gambar 5.1 Sediaan Osteoblast Alveolar Tikus Kontrol (Normal).....	29
Gambar 5.2 Sediaan Osteoblast Kelompok Perlakuan Aa.....	29
Gambar 5.3 Sediaan Osteoblast Kelompok Perlakuan Aa+Minyak Ikan.....	30

BAB 1

PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit periodontal merupakan penyakit inflamasi pada struktur penyangga gigi. Penyakit periodontal ini termasuk penyebab paling signifikan dari kehilangan gigi pada orang dewasa. (Garlet *et al*, 2005) Proses destruksi dari ligamen periodontal dan tulang alveolar ini diakibatkan biofilm patogen pada periodontal, termasuk bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *A. actinomycetemcomitans* adalah satu dari beberapa etiologi utama periodontitis lokal agresif pada manusia. (Kesavalu, 2006) Peran *A. actinomycetemcomitans* untuk penyakit periodontal dapat menginisiasi kerusakan tulang alveolar ketika di berikan pada flora rongga mulut hewan yang sehat. (Fine *et al*, 2007)

Terapi modulasi host merupakan pilihan terapi perawatan periodontal yang relatif baru bagi dokter yang menangani periodontitis. Telah ditetapkan bahwa bakteri merupakan penyebab utama dari penyakit inflamasi periodontal, tetapi kebanyakan kerusakan (tulang dan hilangnya perlekatan) itu terjadi sebagai akibat dari pelepasan sitokin dan prostaglandin dari host. (Hall, 2003) Terapi modulasi host tidak hanya mengontrol bakteri tetapi juga menekan komponen perusak dari respon inflamasi tubuh seperti sitokin. (Newman *et al*, 2006)

Terapi modulasi host ini untuk menangani penderita periodontitis dalam memperlambat proses destruktif. Strategi ini tidak hanya berhubungan dengan resiko periodontitis yang tinggi, tetapi juga penting dalam penatalaksanaan penderita yang beresiko penyakit sistemik. (Newman *et al*, 2006) Karena itu

sebaiknya dipertimbangkan terapi modulasi host untuk pasien periodontal dengan kontrol yang kurang baik. Dengan begitu desuksi tulang alveolar pada pasien periodontitis bisa berkurang.

Minyak ikan telah menunjukkan dapat melindungi tikus dari infeksi bakteri patogen, meregulasi kadar kolesterol, dan menghambat sintesa mediator inflamasi (sitokin). (Kesavalu, 2006) Pada penelitian tikus dengan resorpsi tulang yang diberi diet minyak ikan secara signifikan terdapat penurunan osteoklas. (Indahyani dkk, 2002) Selain itu juga terjadi penurunan level mediator inflamasi dari jaringan gingiva yang terinduksi periodontitis, dan juga adanya penurunan aktivitas osteoklastik serta resorpsi tulang alveol. (Vardar *et al*, 2004)

Berdasarkan hal itu maka penelitian ini dilakukan untuk melihat efek minyak ikan terhadap jumlah sel osteoblast tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian minyak ikan dapat meningkatkan jumlah sel osteoblast tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*?

1.3 Tujuan

Membuktikan adanya peningkatan jumlah sel osteoblast tulang alveolar dari tikus wistar yang diinduksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang telah diberi minyak ikan.

1.4 Manfaat

Pemberian minyak ikan dapat digunakan sebagai terapi tambahan (terapi modulasi host) pada penyakit periodontitis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis

Periodontitis adalah inflamasi jaringan periodontal yang ditandai dengan migrasi *junctional epitel* ke apikal, kehilangan perlekatan dari puncak tulang alveolar. Pada pemeriksaan klinis terdapat peningkatan kedalaman probing, pendarahan saat probing (di tempat aktifnya penyakit) yang dilakukan dengan perlahan dan perubahan kontur fisiologis. Dapat juga ditemukan kemerahan dan penyakit gingiva. (Fedi *et al*, 2005)

Densitas dan ketinggian dari tulang alveolar normalnya di pelihara oleh suatu keseimbangan, diregulasi oleh pengaruh lokal dan sistemik antara formasi dan resorpsi tulang. Ketika resorpsi, densitas dan ketinggian tulang menjadi berkurang. (Newman *et al*, 2006)

Sebenarnya proses inflamasi pada penyakit periodontal ini diaktifkan untuk menahan proses penyebaran penyakit, akan tetapi selain proses yang menguntungkan ini proses inflamasi juga memiliki komponen yang merusak. Oleh karena itu perawatan ditujukan untuk meningkatkan aspek inflamasi yang menguntungkan dan menekan atau mengendalikan potensi yang merusak. (Fedi *et al*, 2005)

Karakteristik beberapa bentuk periodontitis nampak sebagai hilangnya perlekatan yang cepat dan parah yang terjadi selama atau sebelum masa remaja. *Localized Aggressive Periodontitis* (LAP) berkembang selama masa remaja, lebih sering pada perempuan daripada laki-laki, dan menyerang terutama molar

permanen pertama dan insisif. Mikroba yang berhubungan dengan LAP dominannya tersusun dari gram negatif dan batang anaerobik. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* telah disetujui sebagai etiologi utama pada kebanyakan tetapi tidak semua kasus dari LAP. (Newman *et al*, 2006)

2.2 Tulang

Tulang merupakan bentuk spesial dari jaringan ikat yang membentuk sebagian besar kerangka vertebrata. Jaringan tulang terdiri atas sel-sel dan matriks organik yang termineralisasi. Matriks organik pada tulang diperkuat oleh deposit dari garam kalsium. Matriks organik pada tulang, yaitu terdiri dari 95% kolagen tipe I dan 5% sisanya disusun oleh proteoglikan dan sejumlah protein nonkolagen. (Rasjad, 2003)

2.2.1 Sel-sel tulang

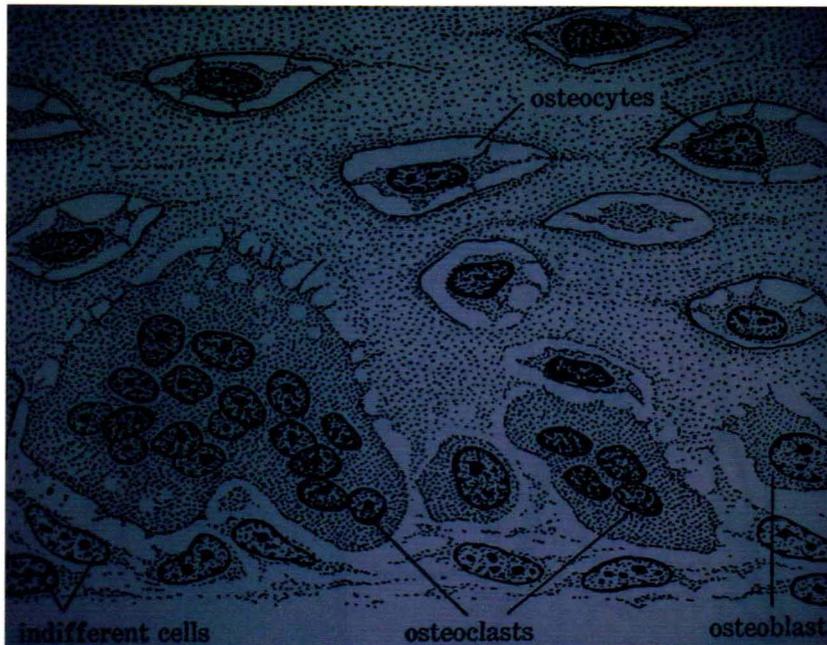
Sel-sel tulang terdiri atas osteoblast, osteosit, dan osteoklas. Osteoblast merupakan sel pembentuk tulang yang berasal dari sel stem mesenkimal. Osteoblast memelihara aktivitas alkaline fosfatase dan memproduksi banyak faktor regulasi, termasuk prostaglandin, sitokin, dan faktor pertumbuhan. Agen produksi lokal ini dikatakan menstimulasi formasi tulang. (Watkins *et al*, 2001)

Osteoblast (Gambar 2.1) berfungsi untuk mensintesis komponen organik dari matriks tulang (kolagen tipe I, proteoglikan, dan glikoprotein), mengendapkan unsur organik matriks tulang baru yang disebut osteoid. Osteoid ini merupakan matriks yang belum terkalsifikasi, serta belum mengandung mineral, namun tidak lama setelah deposisi, osteoid akan segera mengalami

mineralisasi dan menjadi tulang. (Favus, 1993) Meningkatnya proporsi osteoid pada tulang menunjukkan adanya kelainan pada tulang misalnya pada penyakit rakitis dan osteomalasia. (Rasjad, 2003)

Kurang lebih 10-20% dari osteoblast lama-lama berubah menjadi osteosit (Gambar 2.1) dan meskipun tidak semua osteoblast berubah menjadi osteosit, tapi benar adanya bila semua osteosit bentuk asalnya dari osteoblast. Selama pembentukan tulang, osteosit terkurung dalam matriks tulang baru dan berada di dalam lakuna, tetapi aktif secara metabolik. Peran dari osteosit meliputi homeostatis kalsium pada cairan tubuh, menghantarkan informasi ke sel lain di dalam tulang, dan mempertahankan matriks tulang. Matinya osteosit ini akan diikuti dengan resorpsi dari matriks tulang. (Favus, 1993)

Osteoklas (Gambar 2.1) berperan dalam mediator utama proses resorpsi tulang. Sel osteoklas adalah sel dengan inti banyak yang berasal dari sel monosit dalam sumsum tulang. Apabila terjadi resorpsi matriks organik, maka osteoklas dapat terlihat dalam suatu saluran yang disebut lakuna howship. (Rasjad, 2003) Osteoklas merupakan sel multinuclear besar dengan 4-20 nukleus. Pada mikroskop cahaya nuklei ini nampak bundar dan kontur tidak beraturan. Osteoklas sel yang *motile*. Osteoklas meresorpsi tulang untuk membentuk lakuna dan kemudian pindah sepanjang permukaan tulang untuk meresorpsi area yang lainnya. (Favus, 1993)



Gambar 2.1 Osteoblast, Osteosit, dan Osteoklas. (Favus, 1993)

2.2.2 Prosesus Alveolar

Prosesus alveolar adalah bagian maksila dan mandibula yang membentuk dan mendukung soket gigi. Tulang alveolar dibentuk selama masa pertumbuhan fetal dan terdiri dari kalsifikasi matriks dengan osteosit yang mengelilingi rongga dan disebut sebagai lakuna. Pertumbuhan tulang terjadi dari aposisi matriks organik yang dilapisi osteoblast. (Newman *et al*, 2006)

Beberapa langkah untuk pembentukan tulang yaitu pertama dengan sintesis dan proses intraseluler dari kolagen tipe I. Kemudian sekresi dan proses ekstraseluler dari kolagen, dan selanjutnya formasi mikrofibril, fibril, dan serat kolagen. Langkah terakhir dengan maturasi matriks kolagen. Semua fungsi ini dibawah kontrol osteoblast. (Favus, 1993) Dalam proses penyembuhan tulang, regenerasi tulang pada defek dapat terjadi. Sistem imun dapat menginduksi

penyembuhan regenerasi tulang dengan menghentikan formasi osteoklas dan mengaktivasi osteoblast. (Newman *et al*, 2006)

2.3 Minyak Ikan

2.3.1 Klasifikasi Minyak Ikan

Minyak ikan mengandung omega-3 PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids) dan mengandung sedikit omega-6 PUFA. Omega-3 ini kemudian diubah menjadi Eicosapentaenoic Acid (EPA) dan Docosahexaenoic Acid (DHA). Eicosapentaenoid Acid (EPA) akan mengganti asam arakidonat membran sel, sehingga persediaan asam arakidonat untuk mensintesis eikosanoid (prostaglandin E2 dan leukotrin4) berkurang. (Indahyani *et al*, 2002)

Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) adalah asam lemak dengan panjang rantai minimum 18 karbon dan setidaknya 2 ikatan rangkap dan terklasifikasikan menjadi omega-3 dan omega-6. Ikatan rangkap pertama terletak di karbon 3 untuk asam lemak omega-3 dan karbon 6 untuk asam lemak omega-6. Sumber terbaik omega-3 ini dari minyak ikan dan sayur daun hijau juga sumber dari omega-3. Sedangkan omega-6 hadir pada minyak jagung dan kacang kedelai. (Poulsen, 2007)

Kandungan yang termasuk omega-3 adalah Linoleat Acid (LA), Eicosapentaenoic Acid (EPA) dan Docosahexaenoic Acid (DHA), adapun yang lebih dominan dalam minyak ikan yaitu EPA dan DHA. Salah satu kelebihan dari minyak ikan adalah mengandung asam lemak tak jenuh yang relatif lebih banyak. Minyak ikan mengandung 25% asam lemak jenuh dan 75% mengandung asam lemak tidak jenuh. (Sukarsa, 2004)

Omega-3 termasuk dalam kelompok asam lemak esensial. Asam lemak ini disebut esensial karena tidak dapat dihasilkan oleh tubuh dan hanya bisa didapatkan dari makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Asam lemak esensial lainnya yang termasuk dalam kelompok "omega" adalah asam lemak omega-6. (Rasyid, 2003)

Pada beberapa jenis ikan tempat penumpukan minyak yang utama adalah hati, sedangkan pada jenis lainnya tempat penumpukan yang utama adalah pada daging ikan itu sendiri. Lemak yang diperoleh dari organ yang sama pada spesies yang sama, akan mempunyai sifat-sifat dan komposisi yang sama pula. Pada umumnya jenis asam lemak yang terkandung dalam lemak ikan hampir sama dengan asam lemak dari tumbuhan atau hewan lainnya. Perbedaannya adalah terletak pada dominasi dari jenis asam lemaknya. Asam lemak utama pada minyak ikan adalah berkonfigurasi omega-3, sedangkan pada tumbuhan mengandung asam lemak dengan konfigurasi omega-6. (Sukarsa, 2004)

2.3.2 Manfaat Minyak Ikan

Sejak tiga dekade yang lalu, secara ilmiah telah diakui pentingnya minyak ikan dalam nutrisi dan pencegahan berbagai macam penyakit. Studi epidemiologi pada awal tahun 1970 dipostulatkan bahwa kurangnya penderita penyakit jantung koroner di kalangan orang Eskimo, kemungkinan berkaitan dengan kebiasaan mengkonsumsi makanan khusus berupa ikan yang kaya akan asam lemak tak jenuh majemuk (polyunsaturated fatty acids), khususnya Eicosapentaenoic Acid (EPA) dan Docosahexaenoic Acid (DHA). (Rasyid, 2003)

Mengonsumsi omega-3 minyak ikan dalam jumlah yang cukup mampu mengurangi kandungan kolesterol dalam darah dan mengurangi resiko terkena penyakit jantung serta secara selektif dapat membunuh sel-sel kanker dan menyembuhkan gejala-gejala *rheumathoid arthritis*. Aspek klinis lain yang menguntungkan dari mengonsumsi omega-3 minyak ikan adalah mencegah penyakit arterosklerosis, thrombosis, dan arthritis. Hal ini diduga karena adanya sifat antagonis asam lemak omega-3 yang dapat menurunkan aktivitas konversi asam linoleat menjadi asam arakhidonat. (Sukarsa, 2004)

Penelitian terhadap sistem saraf pusat menunjukkan bahwa DHA penting bagi perkembangan manusia sejak awal. Pada masa bayi, DHA memiliki konsentrasi yang sangat tinggi dalam otak dan jaringan retina. DHA terakumulasi sejak janin sampai kehidupan bayi. Defisiensi DHA dalam diet dapat meningkatkan ketidaknormalan yang kemungkinan tidak dapat dipulihkan. Air susu ibu (ASI) mengandung DHA dengan jumlah yang tergantung pada pola makanan sang ibu. Oleh karena itu, konsumsi asam lemak omega-3 dalam bentuk minyak ikan alamiah atau konsentrat asam lemak omega-3 sangat dianjurkan. (Rasyid, 2003)

Akhir-akhir ini penelitian mengindikasikan bahwa tipe dan jumlah dari Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) mempengaruhi formasi tulang pada model hewan dan fungsi sel osteoblast di kultur. Pada tikus dengan diet omega-3 minyak ikan membuat rata-rata formasi tulang yang lebih baik. Efek protektif dari omega 3 PUFA meminimalisir hilangnya mineral tulang. Aksi asam lemak omega-3 di formasi tulang ini berhubungan dengan perubahan fungsi osteoblast. (Watkins *et al*, 2003)

2.4 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Pertama kali dideskripsikan pada tahun 1912 dan dinamai dengan berbedabeda selama beberapa tahun. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dikenal sebagai bagian mikroba normal rongga mulut manusia pada tahun 1950. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan bakteri gram negatif, bentuk non spora, dan fakultatif anaerob yang tumbuh baik pada lingkungan aerobik yang diperkaya CO₂ 5–10%. Pertumbuhan ini optimalnya pada pH sekitar 7-8.5, dan dapat distimulasi oleh sejumlah massa molekular kecil termasuk hormon steroid. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dapat melekat pada komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen dan fibronektin. (Henderson, 2002)

Aggregatibacter actinomycetemcomitans merupakan bakteri yang kecil, pendek (0.4-1 µm), lurus atau bengkok dengan akhiran membulat. Bakteri ini merupakan bakteri nonmotile dan gram negatif. Pada kondisi saat kultur tumbuh berwarna putih, translusen, halus, koloni nonhemolitik pada blood agar. Dan karena densitas yang rendah, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* lebih sering teridentifikasi pada medium pertumbuhan yang spesifik (dengan vankomisin dan bacitracin sebagai antibiotik untuk menekan spesies lain) di bawah 5% sampai 10% karbondioksida, yang nampak koloni warna putih dengan struktur internal bentuk bintang. (Newman *et al*, 2006)

Selama dua dekade terakhir telah ditunjukkan bahwa *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* patogen utama pada kerusakan penyakit periodontal. Spesies ini digolongkan berdasarkan 6 serotipe (a-f). Serotipe b lebih sering ditemukan dan dideteksi pada lesi periodontitis aktif, sedangkan serotipe a dan c

mempunyai hubungan yang kuat dengan kesehatan periodontal. Serotipe b lebih sering ditemukan pada periodontitis agresif daripada kronis. Distribusi global serotipe *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak homogen, yang berarti hubungan antara serotipe dan status periodontal bisa dipengaruhi dari lokasi geografik dan status etnik orang tersebut. (Dumitrescu, 2010)

Peran *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* untuk penyakit periodontal telah ditunjukkan pada model tikus dari postulat Koch's dan didemonstrasikan bahwa *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang diisolasi dari subyek dengan Localized Aggressive Periodontitis (LAP) dapat menginisiasi kerusakan tulang ketika di berikan pada flora rongga mulut hewan yang sehat. (Fine *et al*, 2007)

Aggregatibacter Actinomycetemcomitans memiliki sejumlah faktor virulensi, meliputi lipopolisakarida (endotoksin), leukostoksin (membentuk celah pada granulosit neutrofil, monosit, dan beberapa limfosit), kolagenase (destruksi dari jaringan konektif), dan protease (mampu memecah IgG). Untuk leukotoksin memerankan peran penting dari patogenitas *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. (Newman *et al*, 2006)

2.5 Terapi Modulasi Host

Adanya pemikiran bahwa destruksi jaringan periodontal berhubungan dengan respon host telah membuat penelitian mengarah pada reaksi perlawanan individu terhadap bakteri. Berbagai terapi modulasi host telah dikembangkan untuk menghalangi kerusakan jaringan periodontal. Konsep perawatan modulasi host adalah mengurangi destruksi jaringan, stabilisasi, bahkan meregenerasi

jaringan periodontium dengan memodifikasi atau menurunkan aspek destruksi respon host. (Hartanto dan Lessang, 2009)

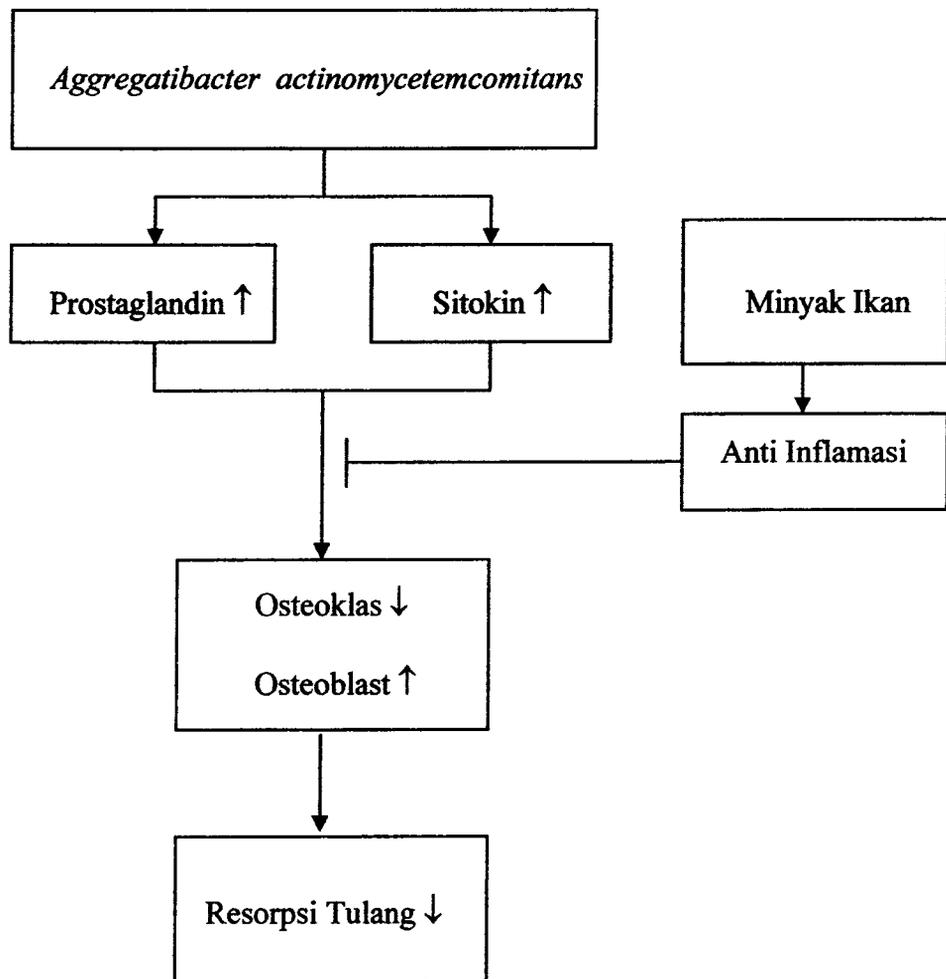
Terapi modulasi host ini dapat digunakan untuk mengurangi jumlah yang berlebihan dari enzim, sitokin, dan prostanoïd serta mempengaruhi fungsi dari osteoblast dan osteoklas. Terapi modulasi host merupakan kunci untuk menangani faktor-faktor resiko yang mempunyai efek merugikan pada respon host, dimana faktor ini sendiri sulit dikendalikan (contoh merokok, diabetes) atau tidak dapat diubah (contoh kerentanan genetik). Terapi modulasi host dapat digunakan secara sistemik dan lokal dalam mengembalikan keseimbangan yang ada pada tubuh sehat dan untuk mencegah berkembangnya penyakit dan meningkatkan hasil terapi. Selain itu, terapi modulasi host dapat dipakai untuk meningkatkan daya pertahanan seseorang atau sebagai mediator anti inflamasi. (Newman *et al*, 2006)

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL
DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



3.2 Hipotesis

Pemberian minyak ikan dapat meningkatkan jumlah sel osteoblast tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

BAB 4
METODOLOGI PENELITIAN

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratoris.

4.2 Kriteria Sampel

Pada penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan yang dipilih memenuhi persyaratan :

1. Rattus Norvegicus Strain Wistar
2. Umur 2-3 bulan
3. Jenis kelamin jantan
4. Berat badan sekitar 150-200 gram
5. Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif

4.3 Besar Sampel

Besar sampel dihitung dengan rumus Vederer yaitu $(r-1)(t-1) \geq 15$

keterangan : r = jumlah sampel

t = jumlah perlakuan, dimana jumlah perlakuan yaitu 3

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

$$(r-1)(3-1) \geq 15$$

$$2r - 2 \geq 15$$

$$2r \geq 17$$

$$r \geq 8.5 \quad \text{maka } r \text{ yang diambil minimal } 9$$

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Pemberian minyak ikan dan pemberian *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

4.4.2 Variabel Tergantung

Jumlah sel osteoblast

4.4.3 Variabel Terkendali

1. Jenis hewan coba adalah *Rattus norvegicus* strain wistar
2. Jenis kelamin hewan coba adalah jantan
3. Umur hewan coba sekitar 2 bulan
4. Berat badan hewan coba sekitar 150 gram
5. Kesehatan fisik hewan coba sudah ditandai dengan gerakan aktif
6. Pemberian makanan berupa pellet dan minuman diberi aquades.
7. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba di sebuah kandang hewan berupa bak plastik berukuran 40 cm X 30 cm X 15 cm dan di atasnya di beri tutup berupa jaring-jaring yang terbuat dari kawat.

4.5 Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Minyak ikan adalah omega 3 yang terkandung dalam minyak ikan kod yang diberikan secara peroral/sonde dengan dosis 1 ml / cc / 100 gram BB / hari selama 1 bulan. (Gambar 4.1)

2. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan bakteri gram negatif berbentuk kokobasilus, dan fakultatif anaerob.

3. Jumlah osteoblast yaitu jumlah sel osteoblast pada sediaan tulang alveolar rahang daerah bifurkasi yang tampak pada lapang pandang dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.



Gambar 4.1 Minyak Ikan Dalam Kemasan

4.6 Lokasi dan Waktu penelitian

4.6.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

4.6.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam waktu 5 minggu.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat

1. Kandang hewan berupa bak plastik berukuran 40 cm X 30 cm X 15 cm dan di atasnya diberi tutup berupa jaring-jaring yang terbuat dari kawat
2. Kotak kaca untuk pembiusan
3. *Feeding tube* dan *syringe*
4. Gunting dan pisau bedah
5. Pinset anatomis
6. Timbangan binatang
7. Tempat makanan dan minuman tikus (berupa botol yang diberi selang)
8. Mikrotom untuk memotong
9. Mikroskop Cahaya
10. Gelas obyek dan gelas penutup
11. Botol dan rak pengecatan

4.7.2 Bahan

1. Minyak ikan
2. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
3. Kapas atau tissue
4. Larutan ether 10%
5. Makanan tikus berupa pellet
6. Aquades untuk minuman tikus yang diganti setiap harinya

4.8 Cara Kerja dan Alur Kerja Penelitian

4.8.1 Pengelolaan Hewan Coba

Tikus putih Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram. Semua tikus mengalami penyesuaian selama seminggu. Semua tikus dipelihara dalam kandang hewan coba dengan ukuran 40 cm X 30 cm X 15 cm untuk tiap kelompok perlakuan yang terdiri dari 9 ekor tikus. Kandang terbuat dari bak plastik yang ditutup dengan anyaman kawat, beralaskan sekam. Kandang-kandang tersebut ditempatkan dalam ruangan yang terisolasi dan terkunci dengan ventilasi udara yang baik dan penerangan alami.

4.8.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Dilakukan randomisasi 30 ekor tikus dan dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol yaitu tikus yang tidak diberi perlakuan sebagai kondisi normal tikus. Kelompok perlakuan 1 yaitu tikus diinduksi dengan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tanpa pemberian minyak ikan. Kelompok perlakuan 2 yaitu tikus diinduksi dengan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan disertai dengan pemberian minyak ikan. Baik pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan pertama, maupun kelompok perlakuan kedua masing-masing berjumlah 9 tikus.

4.8.3 Pemiakan Bakteri *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Gambar 4.2) yang didapatkan dari Laboratorium Bersama di TDC dan dikembangkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.



Gambar 4.2 Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

4.8.4 Penatalaksanaan Perlakuan

Awalnya tikus jantan ini diadaptasikan selama seminggu. Pada tikus kelompok perlakuan 1 dan 2 diinduksikan 9×10^8 CFU bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebanyak 0,05 ml pada bagian gingiva molar rahang bawah. (Gambar 4.3) Kemudian prosedur ini diulang setelah 48 dan 96 jam. Untuk tikus kontrol tidak diberi perlakuan sebagai kondisi normal tikus.

Pemberian minyak ikan, peroral/sonde dengan dosis 1 ml / cc / 100 gram BB / hari (Indahyani *et al*, 2008) selama 1 bulan pada hewan coba. (Gambar 4.4)



Gambar 4.3 Pemberian Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

4.8.6 Pengolahan Sediaan Jaringan

Setelah dilakukan fiksasi jaringan dibilas dengan air mengalir selama 6-9 jam. Lalu dimasukkan ke dalam larutan dekalsifikasi HNO₃ 5% selama 60 menit. Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan dengan tahap pemrosesan sebagai berikut :

1. Dehidrasi (pengambilan air dari jaringan)
2. Clearing (penjernihan)
3. Impregnasi pada temperatur 56 derajat Celcius pada parafin
4. Embedding pada parafin
5. Disayat dengan menggunakan mikrotom, tebal sayatan sekitar 4 mikron. Kemudian dilakukan pewarnaan staining dengan menggunakan regresif Hematoxylin Eosin (HE).

4.8.7 Teknik Pewarnaan Hematoxylin Eosin

Setelah dipilih potongan yang baik diletakkan di atas gelas obyek, kemudian dilakukan pengecatan dengan cara sebagai berikut :

1. Deparafinisasi

Dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan Xyelene selama 2 menit. Kemudian masukan ke dalam alkohol absolute selama 3 menit, alkohol 95% selama 3 menit, selanjutnya dicuci dengan air.

2. Pengecatan dengan larutan Haematoxylin

Dimasukkan ke dalam larutan Haematoxylin selama 5 menit. Haematoxylin ini untuk mewarnai inti sel, kemudian dicuci dengan air mengalir.

3. Dekolorisasi

Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan kelebihan HE di dalam jaringan dan dilakukan dengan cara dicelupkan ke dalam asam alkohol 0,5% sebanyak 3 kali celupan. Kemudian dicuci dalam air selama 1 menit.

4. Pengecatan dengan Lithium karbonat

Dimasukkan ke dalam larutan lithium karbonat selama 1-2 menit agar didapatkan inti membiru. Kemudian dicuci dalam air mengalir selama 5-10 menit.

5. Pengecatan dengan eosin

Dimasukkan ke dalam larutan eosin selama 0,5-10 menit. Kemudian dicuci dengan air.

6. Dehidrasi

Dilakukan dengan memasukkan ke dalam alkohol 95% selama 1 menit dan kemudian dalam alkohol absolut 2 kali.

7. Clearing

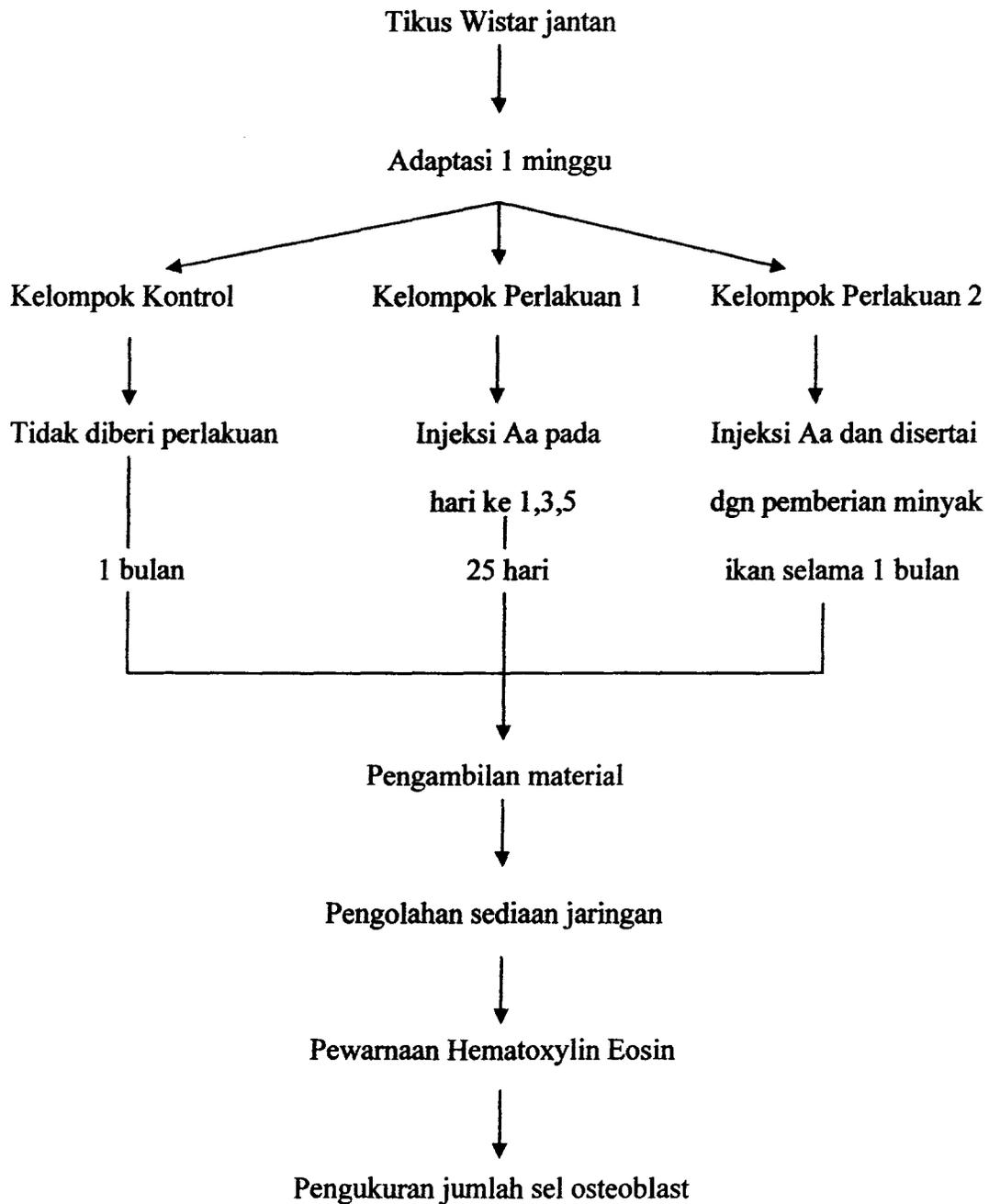
Dimasukkan ke dalam larutan xylene selama beberapa menit sebanyak 3 kali.

8. Mounting

4.9 Analisis data

Data-data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisa dengan menggunakan uji ANOVA. Uji tersebut digunakan untuk menguji signifikansi data jumlah sel osteoblast antara tiga kelompok coba, yaitu kelompok kontrol (normal), kelompok perlakuan dengan pemberian minyak ikan dan kelompok perlakuan tanpa pemberian minyak ikan. Sebelum dilakukan pengujian dengan uji ANOVA, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Jika data tidak terdistribusi normal maka uji ANOVA diganti dengan Uji Kruskal-Wallis

4.10 Bagan dan Alur Kerja



BAB 5

HASIL PENELITIAN

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan jumlah hewan coba sejumlah 27 ekor tikus wistar. Kelompok kontrol adalah kelompok tikus normal yang tidak mendapatkan perlakuan apapun. Kelompok *A. actinomycetemcomitans* adalah kelompok tikus yang diberi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Kelompok Aa+minyak ikan adalah kelompok tikus yang selain diberi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* juga diberi minyak ikan sejak hari pertama penelitian sampai akhir penelitian yaitu hari ke 30. Dari hasil penelitian didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 5.1 Nilai Mean dan Standar Deviasi Jumlah Osteoblast Pada Tikus Kelompok Kontrol, *A. actinomycetemcomitans*, dan Aa+Minyak Ikan

No Sampel	Jumlah Osteoblast		
	Kontrol	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Aa + Minyak Ikan
Mean	6	3.22	10.89
SD	3.279	1.716	2.571

Dari data tabel 5.1 dapat dikatakan bahwa jumlah osteoblast terbanyak yang ada di tulang alveolar berasal dari kelompok Aa+minyak ikan, dan osteoblast yang paling sedikit berasal dari kelompok *A. actinomycetemcomitans*. Berikut contoh gambar sediaan osteoblast alveolar tikus pada tiap kelompok.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan dilakukan uji F, dengan kriteria apabila signifikansi < 0.05 menandakan adanya perbedaan tiap kelompok. Hasil perhitungan uji F diperoleh nilai signifikansi 0,000. Nilai signifikansi ini < 0.05 . Sehingga ada perbedaan antar kelompok perlakuan.

Dari 3 kelompok yang ada, digunakan Uji LSD (*Least Significant Differance*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda. Pada tabel 5.2 dapat diketahui bahwa kelompok kontrol, kelompok *A. actinomycetemcomitans*, dan kelompok Aa+minyak ikan memiliki perbedaan signifikan satu sama lain. ($p < 0.05$)

Tabel 5.2 Perhitungan LSD Jumlah Osteoblast Pada Tikus Kelompok Kontrol,

A. actinomycetemcomitans, dan Aa+Minyak Ikan

Kelompok	Kontrol	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Aa+Minyak Ikan
Kontrol	-	0.033	0.001
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0.033	-	0.000
Aa+Minyak Ikan	0.001	0.000	-

BAB 6
PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan peningkatan jumlah sel osteoblast tulang alveolar dari tikus wistar yang diinduksi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan pemberian minyak ikan. Penelitian ini menggunakan 9 ekor hewan coba tiap kelompoknya. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini yaitu tikus.

Alasan penggunaan tikus dikarenakan tikus memiliki kemiripan paling banyak terhadap manusia dalam hal anatomi periodontal, perkembangan dan komposisi plak dental, histopatologi lesi periodontal, dan imunologi dasar. Sebuah penelitian pada tikus yang bebas bakteri telah menegaskan bakteri patogen periodontal tikus meliputi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, dan *Fusobacterium nucleatum*. (Hau, 2003)

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diinduksikan pada daerah gingiva gigi molar tikus. Alasan penggunaan gigi molar tikus dikarenakan pada gigi insisif tikus tidak memiliki akar dan terus tumbuh berkembang. Gigi molar tikus mirip pada manusia dalam hal struktur dan organisasi dari jaringan periodontal (seperti serat kolagen periodontal, sementum, dan tulang alveolar). Penemuan klinis dan histologi dalam penyakit periodontal pada tikus mirip dengan yang ditemukan pada manusia. Secara klinis, adanya *bleeding on probing* pada gingiva dapat diamati beberapa hari setelah pemaparan dari patogen mikrobial periodontal. (Hau, 2003)

Pada penelitian ini, ada 3 jenis kelompok, yang dikelompokkan sebagai kelompok kontrol, *A. actinomycetemcomitans*, dan minyak ikan. Setelah dilakukan penelitian selama sebulan didapatkan rata-rata jumlah osteoblast dari kelompok kontrol berjumlah 6. Kelompok *A. actinomycetemcomitans* memiliki rata-rata jumlah osteoblast 3.22. Kelompok Aa+minyak ikan memiliki rata-rata jumlah osteoblast 10.89. Jadi bila rata-rata hasil penelitian dapat diurutkan maka mulai yang dari kecil adalah kelompok *A. actinomycetemcomitans*, diikuti kelompok kontrol, dan terakhir kelompok Aa+minyak ikan. Data dari hasil penelitian ini terdistribusi normal namun bersifat tidak homogen. Meski tidak homogen, data tetap bisa diuji menggunakan Uji ANOVA (Ghozali, 2006). Dari hasil Uji ANOVA, diketahui bahwa kelompok kontrol dan kelompok *A. actinomycetemcomitans* memiliki perbedaan, Kelompok kontrol dan kelompok Aa+minyak ikan memiliki perbedaan, juga kelompok *A. actinomycetemcomitans* dan kelompok Aa+minyak ikan memiliki perbedaan. Jadi tiap kelompok memiliki perbedaan satu sama lain.

Penelitian ini menunjukkan kemampuan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dalam menurunkan jumlah osteoblast. Ketika jumlah osteoblast yang ditemukan dalam kelompok kontrol memiliki rata-rata jumlah osteoblast 6, pada kelompok yang hanya diberi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki rata-rata jumlah osteoblast 3.22. Faktor virulensi yang dimiliki *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* seperti leukotoksin, lipopolisakarida, kolagenase, dan protease mendorong peningkatan respon imun dari jaringan periodontal. (Newman *et all*, 2006) Lipopolisakarida merupakan faktor virulensi utama dari bakteri gram negatif periodontopatogen

dimana lipolisakarida ini merangsang pelepasan metabolisme asam arakidonat melalui jalur siklooksigenase. Peningkatan ekspresi dari siklooksigenase pada periodontitis menyebabkan peningkatan prostaglandin-2. (Vardar *et al*, 2004)

Akibat dari pemberian bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terjadi peningkatan makrofag dalam mendorong respon imun dari jaringan periodontal. Makrofag ini berpartisipasi sebagai respon imun lokal dengan cara membunuh patogen dan memproduksi mediator inflamasi. Mediator inflamasi yang diproduksi oleh makrofag, yaitu interleukin-1, TNF, dan prostaglandin-2. Interleukin-1 merupakan stimulan potent dari proliferasi, diferensiasi, dan aktivasi osteoklas. TNF- α yang aktivitas biologinya mirip Interleukin-1 juga mengaktifkan osteoklas tetapi tidak sepotent Interleukin-1. Dengan meningkatnya aktivitas osteoklas ini maka proses resorpsi tulang juga meningkat. (Newman *et al*, 2006)

Prostaglandin-2 sendiri terbukti dideteksi dalam jumlah yang tinggi pada jaringan gingiva pada penyakit periodontal. (Vardar *et al*, 2005) Prostaglandin-2 ini bertanggung jawab terhadap proses resorpsi tulang terkait periodontitis. (Newman *et al*, 2006) Baik proses formasi dan resorpsi tulang dipengaruhi oleh prostaglandin-2, dan efeknya pada tulang dapat bervariasi tergantung dari konsentrasinya. Prostaglandin-2 menghambat formasi matriks tulang pada konsentrasi tinggi. (Watkins *et al*, 2003) Sedangkan saat diberi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terdapat peningkatan prostaglandin-2. Jadi bisa dikatakan pemberian bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menghambat formasi tulang.

Respon tulang alveolar terhadap inflamasi termasuk pembentukan tulang dan resorpsi. Sehingga hilangnya tulang pada penyakit periodontal ini tidak hanya

proses destruktif tetapi hasil dari dominasi resorpsi atas pembentukan. Pembentukan tulang baru, gagal menghalangi kecepatan hilangnya tulang, kompensasinya adalah kerusakan tulang oleh inflamasi. (Herawati, 2007) Oleh karena itu pada kelompok *A. actinomycetemcomitans* masih tampak adanya osteoblast walaupun sangat sedikit jumlahnya.

Sesuai dengan uji LSD (*Least Significant Differance*) yang telah dilakukan antara kelompok kontrol dan minyak ikan didapatkan hasil yaitu 0.001 yang berarti ada perbedaan ($p < 0.05$). Hal ini berarti bahwa ada perbedaan jumlah osteoblast antara kelompok kontrol dan kelompok Aa+minyak ikan. Pada hasil penelitian ini jumlah osteoblast kelompok Aa+minyak ikan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Perbedaan ini bisa dikarenakan pada kelompok Aa+minyak ikan selain diberi minyak ikan juga diberikan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada tikus-tikus tersebut. Bakteri ini merangsang peningkatan dari mediator inflamasi tubuh. Dan pemberian minyak ikan akan membantu tubuh dalam menghadapi peningkatan inflamasi ini. Respon timbal balik inilah yang menyebabkan pengaktifan dan peningkatan jumlah osteoblast melebihi normal untuk memperbaiki kerusakan yang sudah ditimbulkan oleh bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Perbedaan yang signifikan juga terlihat antara kelompok perlakuan yang hanya diberi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan kelompok perlakuan yang selain diberi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* juga diberi minyak ikan. Hal ini membuktikan kemampuan dari minyak ikan dalam meningkatkan jumlah osteoblast. Kandungan omega 3 yang dimiliki minyak ikan akan menekan sintesis dari interleukin-1, TNF- α , dan prostaglandin-2. Beberapa

studi telah menunjukkan peningkatan dari osteoblast ketika produksi prostaglandin-2 dikurangi atau dihambat. (Watkins *et al*, 2001)

Selain itu kandungan EPA dan DHA dari omega 3 minyak ikan akan bersaing dengan asam arakidonat dan menyebabkan penurunan sintesis metabolisme asam arakidonat, sehingga persediaan asam arakidonat untuk mensintesis prostaglandin-2 berkurang. (Vardar *et al*, 2004) Prostaglandin-2 merupakan mediator utama dalam resorpsi tulang alveolar di periodontitis. (Vardar *et al*, 2005) Saat konsentrasi rendah prostaglandin-2 dapat menstimulasi formasi tulang. (Watkins *et al*, 2003) Alam dkk juga telah menyatakan bahwa tikus dengan diet tinggi omega 3 menunjukkan penurunan level asam arakidonat dan prostaglandin-2 di jaringan gingiva. (Vardar *et al*, 2005) Dengan begitu proses resorpsi dapat dikurangi.

Analisis data menunjukkan secara jelas bahwa, minyak ikan meningkatkan jumlah osteoblast pada tikus yang diberi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Ada banyak studi pada model hewan dan manusia yang menyarankan minyak ikan dapat digunakan untuk mengatur respon radang kronik juga pada penyakit lain, seperti *rheumatoid arthritis* (Geusens *et al*, 1994), dan selama osteoporosis pada tikus dengan penyakit autoimun yang di ovarektomi (Sun *et al*, 2003; Bhattacharya *et al*, 2005) Penelitian ini dapat menjadi pelopor untuk penelitian klinis selanjutnya pada manusia dalam menyelidiki strategi penggunaan minyak ikan pada manusia dengan penyakit periodontal. (Kesavalu, 2006)

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Pemberian minyak ikan dapat meningkatkan jumlah sel osteoblast tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian klinis lebih lanjut tentang penggunaan minyak ikan sebagai terapi modulasi host pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharya, A., Rahman, M., Banu, J., Lawrence, R.A., McGuff, H.S., Garrett, I.R., *et al.* 2005. Inhibition of Osteoporosis in Autoimmune Disease Prone MRL-Mpj-Fas (lpr) Mice by N-3 Fatty Acids. *J Am Coll Nutr.* Vol 24. No 3. pp. 200-209.
- Dumitrescu, A.L. 2010. *Etiology and Pathogenesis of Periodontal Disease.* New York : Springer. p .41.
- Favus, M.K. 1993. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorder of Mineral Metabolism.* 2nd ed. New York : Raven Press. pp. 5-9, 15-17, 25-27, 33-36.
- Fedi, P.F. Vernino, A.R., and Gray, J.L., 2005. *Silabus Periodonti.* 4th ed. Alih Bahasa: drg. Amaliya. USA: EGC. pp.10-12, 23-24.
- Fine, D.H., Markowitz, K., Furgang, D., Fairlie, K., Ferrandiz, J., Nasri, C., Mckiernan, M., and Gunsolley, J., 2007. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and Its Relationship to Initiation of Localized Aggressive Periodontitis: Longitudinal Cohort Study of Initially Healthy Adolescents. *Journal of Clinical Microbiology.* Vol. 45. No.12. pp. 3859.
- Garlet, G.P., Avilacampos, M.J., Milanezi, C.M., Ferreira, B.R., and Silva, J.S., 2005. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced Periodontal Disease in Mice : Patterns of Cytokine, Chemokine, and Chemokine Receptor Expression and Leukocyte Migration. *Microbes and Infection.* Vol 7. pp. 738-747.
- Geusens, P., Wouters, C., Nijs, J., Jiang, Y., and Dequeker, J. 1994. Long-Term Effect of Omega-3 Fatty Acid Supplementation in Active Rheumatoid Arthritis. A 12-month, double-blind, controlled study. *Arthritis Rheum.* Vol 37. pp. 824-829.
- Ghozali. 2006. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS.* Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro. p. 64.
- Hartanto, M.L., dan Lessang, R., 2009. Pemberian Flurbiprofen Sebagai Perawatan Penunjang Penyakit Periodontal. *Majalah Kedokteran Gigi.* Vol 24. No 2. pp. 85-89.

- Hall, W.B., 2003. *Critical Decisions in Periodontology*. 4th ed. p. 306.
- Hau, J., and Hoosier, G.L.V., 2003. *Handbook of Laboratory Animal Science*. 2nd ed. USA : CRC Press. pp. 248.
- Henderson, B., Wilson, M., Sharp, L., and Ward, J.M., 2002. Actinobacillus Actinomycetemcomitans. *Journal Medical Microbiology*. Vol 51. pp. 1013-1020.
- Herawati, D., 2007. Penghambatan Terhadap Kerusakan Progresif Tulang Alveolar Pada Periodontitis Agresif. *Majalah Kedokteran Gigi*. Vol 14. No 1. hlm. 79-85.
- Indahyani, D.E., Pudyani, P.S., dan Supartinah, A., 2002. *Pengaruh Minyak Ikan Terhadap Aktivitas Osteoklas Periapikal Pada Tikus In-Vivo*. Skripsi. Universitas Gajah Mada. hlm. 1-5.
- Indahyani DE, Pudyani PS, Santoso AL, Jonarta AL, Sosroseno W. 2002. The Effect of Fish Oil on Bone Resorption Following Pulp Exposure in Rats. *Dent Traumatol*. Vol. 18. hlm. 206-211.
- Indahyani, D.E., Santoso, A.S., Utoro, T., Soesaty, M.H., Sosroseno., W., 2008. Effect of Fish Oil on Lipopolysaccharide-Induced Hydroxyapatite Loss in Rat Alveolar Bone: A Preliminary Study. *Online Journal of Health and Allied Sciences*. Vol. 7. No. 4. hlm. 1-3.
- Kesavalu, L., 2006. Omega-3 Fatty Acid Effect on Alveolar Bone Loss in Rats. *Journal of Dental Research*. Vol. 85. No. 7. pp. 648-652.
- Newman, M.G., Takei, H.H., Klokevold, P.R., and Carranza, F.A., 2006. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Missouri: Saunders. pp. 160, 239, 240, 280, 285, 355.
- Poulsen, R.C., Moughan , P.C., and Kruger, M.C. 2007. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and the Regulation of Bone Metabolism. *Experimental Biology and Medicine*. Vol. 232. No. 10. pp. 1275-1288.
- Rasjad, C., 2003. *Pengantar Ilmu Bedah Ortopedi*. Edisi ke-2. Makassar: Bintang Lmamumpatue. hlm. 5-13, 185-187.
- Rasyid, A., 2003. Asam Lemak Omega-3 Dari Minyak Ikan. *Oseana*. Vol. 28. No. 3. hlm. 11-16.

- Sukarsa, D.R., 2004. Studi Aktivitas Asam Lemak Omega-3 Ikan Laut Pada Mencit Sebagai Model Hewan Percobaan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. 7. No. 1. hlm. 69-78.
- Sun, D., Krishnan, A., Zaman, K., Lawrence, R., Bhattacharya, A., Fernandes, G. 2003. Dietary n-3 Fatty Acids Decrease Osteoclastogenesis and Loss of Bone Mass in Ovariectomized Mice. *J Bone Miner Res*. Vol 18. pp. 1206-1216.
- Vaananen, K., and Zhao, H., 2002. *Osteoclast Function In: Principles of Bone Biology*. 2nd ed. San Diego: Academic Press. pp.127-139.
- Vardar S., Buduneli E., Turkoglu O., Berdeli A.H., Baylas H., Baskesen A., *et al.* 2004. Therapeutic Versus Prophylactic Plus Therapeutic Administration of Omega-3 Fatty Acid on Endotoxin-Induced Periodontitis in Rats. *J Periodontol*. Vol. 75. pp. 1640-1646.
- Vardar S., Buduneli E., Baylas H., Berdeli A.H., Buduneli N., and Atilla, G., 2005. Individual and Combined Effects of Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor and Omega-3 Fatty Acid on Endotoxin-Induced Periodontitis in Rats. *J Periodontol*. Vol. 76. pp. 99-106.
- Watkins, B.A., Li, Y., Lippman, H.E., and Seifert, M.F., 2001. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Skeletal Health. *Society for Experimental Biology and Medicine*. Vol. 226. pp. 485-497.
- Watkins, B.A., Li, Y., Lippman, H.E., and Feng, S., 2003. Modulatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on osteoblast function and bone metabolism. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Vol. 68. pp. 387-398.

LAMPIRAN

LAMPIRAN**KOMISI KELAIKAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KKEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA****KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

Nomor : 107/KKEPK.FKG/X/2010

Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul :

**" PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN
TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS PADA TIKUS
YANG DIINDUKSI *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS* "**

Peneliti Utama : **Meiliana**
Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : - Laboratorium Biokimia FKG Unair

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 15 Oktober 2010

Ketua,

Prof. Dr. ISTIATI, drg, SU

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Normal	Perlakuan 1	Perlakuan 2
N		9	9	9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.00	3.22	10.89
	Std. Deviation	3.279	1.716	2.571
Most Extreme Differences	Absolute	.285	.230	.223
	Positive	.285	.206	.111
	Negative	-.174	-.230	-.223
Kolmogorov-Smirnov Z		.854	.691	.668
Asymp. Sig. (2-tailed)		.459	.726	.763

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	9	6.00	3.279	1.093	3.48	8.52	2	11
Perlakuan 1	9	3.22	1.716	.572	1.90	4.54	1	5
Perlakuan 2	9	10.89	2.571	.857	8.91	12.87	7	15
Total	27	6.70	4.084	.786	5.09	8.32	1	15

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.902	2	24	.034

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	271.185	2	135.593	20.033	.000
Within Groups	162.444	24	6.769		
Total	433.630	26			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Data

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Perlakuan 1	2.78*	1.226	.033	.25	5.31
	Perlakuan 2	-4.89*	1.226	.001	-7.42	-2.36
Perlakuan 1	Normal	-2.78*	1.226	.033	-5.31	-.25
	Perlakuan 2	-7.67*	1.226	.000	-10.20	-5.14
Perlakuan 2	Normal	4.89*	1.226	.001	2.36	7.42
	Perlakuan 1	7.67*	1.226	.000	5.14	10.20

*. The mean difference is significant at the .05 level.

