



**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)  
DAN ANTIOKSIDAN TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA  
TIKUS WISTAR JANTAN YANG MENGALAMI  
INFEKSI PERIODONTITIS**

**SKRIPSI**

Oleh

**VERIESKA HARIT DEVAYANTI**

**NIM 081610101063**

**BAGIAN ILMU KEDOKTERAN GIGI DASAR  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**



**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)  
DAN ANTIOKSIDAN TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA  
TIKUS WISTAR JANTAN YANG MENGALAMI  
INFEKSI PERIODONTITIS**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan pendidikan pada Fakultas Kedokteran Gigi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**VERIESKA HARIT DEVAYANTI**

**NIM 081610101063**

**BAGIAN ILMU KEDOKTERAN GIGI DASAR  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2012**

## PERSEMBAHAN

*Atas rahmat Allah SWT, skripsi ini kupersembahkan...*

untuk ibunda Marita dan ayahanda Hadi Ismoyo beserta adikku Diovara A.T.,  
atas segala hal terbaik yang selalu diberikan untukku;

untuk kekasihku Agung Prabowo,  
atas segala hal terbaik yang selalu diberikan untukku;

untuk guru-guru terbaikku, yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan  
yang tak terhingga serta kesabaran dalam membimbingku;

untuk almamaterku Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,  
yang telah memberikan pelajaran hidup berharga hingga saat ini.

## MOTTO

”Wahai orang-orang yang beriman, bersabarlah (bersungguh-sungguhlah) kamu dan kuatkanlah kesabaranmu (tingkatkan kesabaranmu) dan tetaplah bersiap-siaga (kuatlah berpegang pada ilmu-ilmu-mu) dan bertaqwalah kepada Allah, supaya kamu menang (beruntung).”  
(Q.S. Ali Imran, 200).\*)

“Berangkat dengan penuh keyakinan, berjalan dengan penuh keikhlasan istiqomah dalam menghadapi cobaan”

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *AL-JUMANATUL 'ALI Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung: CV Penerbit J-ART

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Verieska Harit Devayanti

NIM : 081610101063

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longicep*) dan Antioksidan Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan yang Mengalami Infeksi Periodontitis**” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas kesalahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Juni 2012

Yang menyatakan,

Verieska Harit Devayanti

NIM. 081610101063

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longicep*)  
DAN ANTIOKSIDAN TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA  
TIKUS WISTAR JANTAN YANG MENGALAMI  
INFEKSI PERIODONTITIS**

Oleh

**VERIESKA HARIT DEVAYANTI**  
NIM 081610101063

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Yenny Yustisia, M. Biotech.

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longicep*) dan Antioksidan Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan yang Mengalami Infeksi Periodontitis” telah diuji dan disahkan pada:

hari : Kamis  
tanggal : 14 Juni 2012  
tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes.  
NIP 196903031997022001

Anggota I,

Anggota II,

drg. Yenny Yustisia, M. Biotech.  
NIP 197903252005012001

drg. Izzata Barid, M. Kes.  
NIP 196805171997022001

Mengesahkan

Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes.  
NIP 195909061985032001

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longicep*) dan Antioksidan Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan yang Mengalami Infeksi Periodontitis;** Verieska Harit Devayanti, 081610101063; 2012; 70 halaman; Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Dasar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal merupakan penyebab utama terjadinya resorpsi tulang alveolar. Minyak ikan lemuru adalah salah satu obat alami yang berasal dari biota laut yang memiliki manfaat tinggi bagi kesehatan karena banyak mengandung omega-3 yang terdiri dari EPA & DHA yang dapat mencegah terjadinya resorpsi tulang alveolar. Omega-3 dalam minyak ikan ternyata bersifat sangat tidak stabil sehingga mudah teroksidasi oleh radikal bebas, tetapi dapat dicegah dengan pemberian antioksidan yaitu vitamin c. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longicep*) dan vitamin c sebagai antioksidan terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang mengalami infeksi periodontitis.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *the posttest only control design group*. Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan, berumur 2 bulan, sebanyak 24 ekor, dan dibagi menjadi 8 kelompok yang kemudian dibagi menjadi 2 menurut hari dekapitasi, masing-masing terdiri dari 4 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus wistar jantan. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif, disonde lambung saline normal. Kelompok 2 sebagai kontrol positif, diinduksi LPS. Kelompok 3 diinduksi LPS dan disonde lambung minyak ikan lemuru. Kelompok 4 diinduksi LPS, disonde lambung minyak ikan lemuru dan vitamin c. Setelah hari ke-7 dan hari ke-14, tikus didekapitasi, kemudian dilakukan pembuatan preparat jaringan dan perhitungan jumlah sel osteoblas menggunakan mikroskop binokuler.

Hasil penelitian ini menunjukkan jumlah osteoblas berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kelompok-kelompok penelitian. Pemberian minyak ikan lemuru dapat menghambat terjadinya resorpsi tulang alveolar yang distimulasi oleh LPS. Oleh karena induksi LPS untuk menstimulasi terjadinya resorpsi tulang dapat dihambat oleh kandungan minyak ikan lemuru yaitu omega-3 yang terdiri dari EPA dan DHA. Sehingga jumlah dan aktivitas osteoklas menurun, sedangkan osteoblas meningkat. Disimpulkan bahwa pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dapat menghambat dan meningkatkan jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang mengalami infeksi periodontitis.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dan Antioksidan Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan yang Mengalami Infeksi Periodontitis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan atas bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan bagi penulis hingga terselesaikannya skripsi ini;
2. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Yenny Yustisia, M.Biotech, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, dan dukungan moral yang tak terhingga dalam penulisan skripsi ini;
3. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku sekretaris penguji yang telah banyak memberikan masukan dalam menyempurnakan penulisan skripsi ini;
4. drg. Amiyatun Naini, M.Kes, selaku dosen wali yang telah menjadi seorang ibu dan memberikan motivasi selama menempuh studi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Seluruh staf dan teknisi Laboratorium Histologi dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. Ibunda Marita dan ayahanda Hadi Ismoyo, terima kasih atas segala pengorbanan, kesabaran, cinta kasih, semangat, nasehat, dan doa restunya yang selalu tercurah untuk ananda;
7. Adikku Diovara Ananda Tamayo, terima kasih telah mengisi hari-hari dalam hidupku;

8. Kekasihku tersayang Agung Prabowo yang selalu setia menemaniku dalam suka maupun duka, yang telah menjadi bagian dari hidupku, terima kasih atas untuk segalanya yang sudah kamu lakukan untukku ;
  9. Teman-teman seperjuangan skripsi (Desy Khasanah Puspitaningrum dan Rahmaniar Dwiya Safitri), terima kasih atas bantuan, semangat, doa dan kerjasamanya dari awal sampai akhir. Semoga tetap terjaga dengan baik;
  10. Sahabat-sahabatku Tri Mey Prasetyowati, Ulil Rachima Putri, Anggita Prawitasari, Ika Novitri Wulandari, Sofia N. Chamidah terima kasih atas segala bantuan, dukungan, semangatnya selama ini;
  11. Mbak Kartika, mbak Zoraya, mbak Ane, mbak Ifa, mbak Endah, mas Andika, mas Jimmy, atas semangat, tentiran dan ilmu yang sangat bermanfaat;
  12. Teman-teman seangkatan 2008, terima kasih atas segala bantuannya;
  13. Analis Laboratorium Fisiologi, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Sri Wahyuni, A. Md. dan Agus Murdojohadi, A. Md., yang telah banyak membantu dalam penelitian;
- Harapan penulis, semoga skripsi ini memberikan manfaat dan ilmu pengetahuan baru bagi khasanah kedokteran gigi. Amin.

Jember, 14 Juni 2012

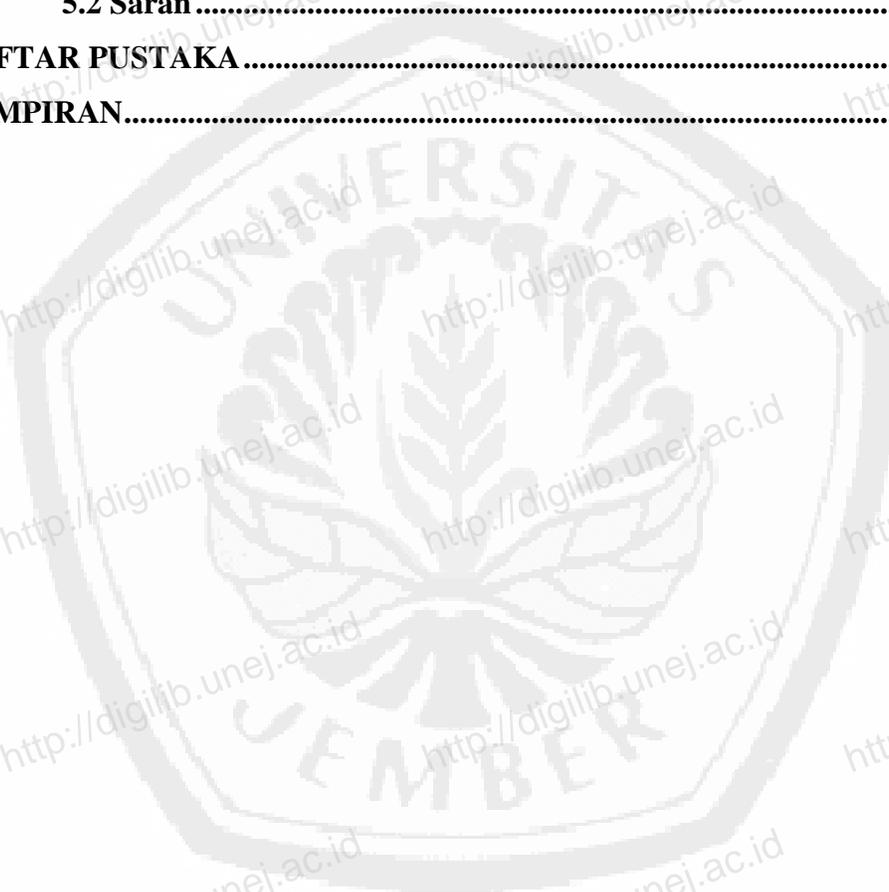
Penulis

## DAFTAR ISI

|  | Halaman    |
|--|------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                             | <b>i</b>   |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>                       | <b>ii</b>  |
| <b>HALAMAN MOTTO .....</b>                             | <b>iii</b> |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>                         | <b>iv</b>  |
| <b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>                       | <b>v</b>   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>                         | <b>vi</b>  |
| <b>RINGKASAN .....</b>                                 | <b>vii</b> |
| <b>PRAKATA.....</b>                                    | <b>ix</b>  |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                 | <b>xi</b>  |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                              | <b>xiv</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                              | <b>xv</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>                            | <b>xvi</b> |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>                        | <b>1</b>   |
| <b>1.1 Latar Belakang.....</b>                         | <b>1</b>   |
| <b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>                       | <b>3</b>   |
| <b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>                      | <b>3</b>   |
| <b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>                     | <b>3</b>   |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                    | <b>4</b>   |
| <b>2.1 Ikan Lemuru .....</b>                           | <b>4</b>   |
| <b>2.2 Minyak Ikan Lemuru .....</b>                    | <b>4</b>   |
| 2.2.1 Proses Pembuatan Minyak Ikan Lemuru .....        | 5          |
| 2.2.2 Manfaat Minyak Ikan Lemuru.....                  | 6          |
| 2.2.3 Sifat-sifat Minyak Ikan Lemuru .....             | 7          |
| 2.2.4 Metabolisme Minyak Ikan Lemuru .....             | 8          |
| <b>2.3 Radikal Bebas.....</b>                          | <b>8</b>   |
| 2.3.1 Sumber Radikal Bebas.....                        | 9          |
| 2.3.2 Mekanisme Kerusakan Sel oleh Radikal Bebas ..... | 10         |
| 2.3.3 Akibat Terjadinya Radikal Bebas .....            | 10         |
| <b>2.4 Vitamin C.....</b>                              | <b>12</b>  |
| 2.4.1 Definisi dan Sifat Vitamin C.....                | 12         |

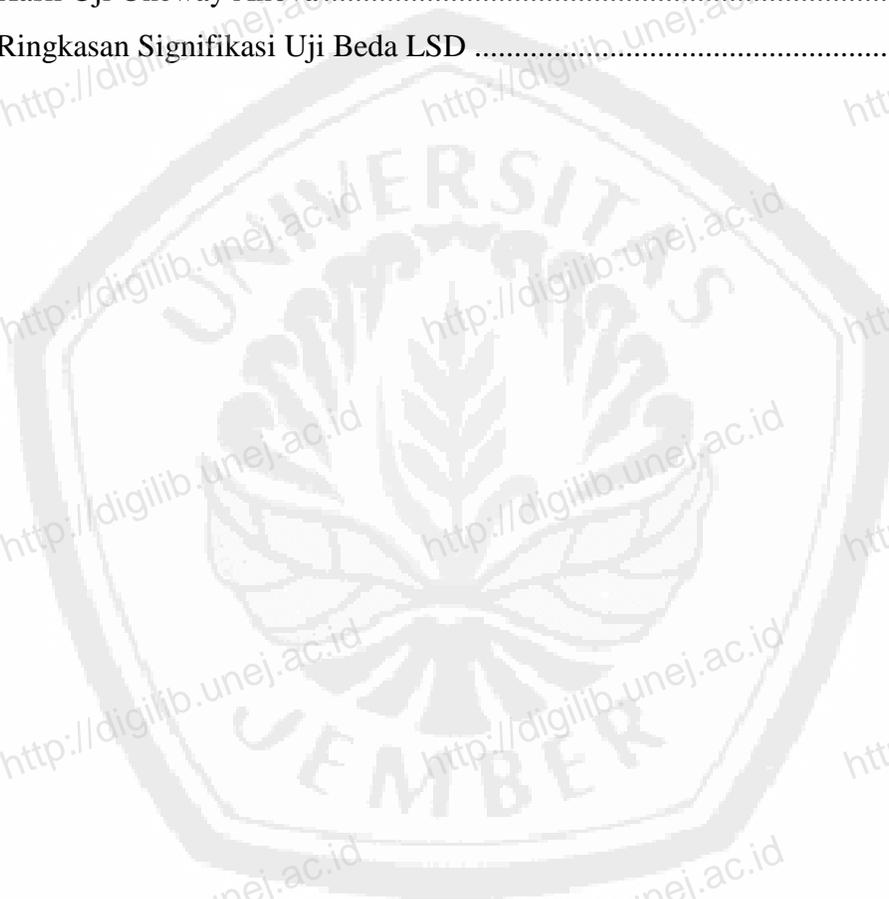
|  |           |
|--|-----------|
| 2.4.2 Fungsi Vitamin C.....                            | 13        |
| 2.4.3 Metabolisme Vitamin C.....                       | 14        |
| 2.4.4 Peranan Vitamin C sebagai Antioksidan.....       | 14        |
| <b>2.5 Periodontitis .....</b>                         | <b>15</b> |
| 2.5.1 Etiologi Periodontitis .....                     | 15        |
| 2.5.2 Gejala Periodontitis.....                        | 16        |
| 2.5.3 Mekanisme Periodontitis .....                    | 17        |
| 2.5.4 Patogenesis Periodontitis .....                  | 17        |
| <b>2.6 Tulang .....</b>                                | <b>19</b> |
| <b>2.7 Osteoblas.....</b>                              | <b>19</b> |
| <b>2.8 Kerangka Konseptual.....</b>                    | <b>21</b> |
| <b>2.9 Hipotesis.....</b>                              | <b>21</b> |
| <b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>               | <b>22</b> |
| <b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>                       | <b>22</b> |
| <b>3.2 Rancangan Penelitian.....</b>                   | <b>22</b> |
| <b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>            | <b>22</b> |
| 3.3.1 Tempat Penelitian .....                          | 22        |
| 3.3.2 Waktu Penelitian.....                            | 22        |
| <b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>                   | <b>22</b> |
| 3.4.1 Variabel Bebas.....                              | 22        |
| 3.4.2 Variabel Terikat .....                           | 22        |
| 3.4.3 Variabel Terkendali .....                        | 23        |
| <b>3.5 Definisi Operasional .....</b>                  | <b>23</b> |
| 3.5.1 Jumlah Osteoblas .....                           | 23        |
| 3.5.2 Minyak Ikan Lemuru .....                         | 23        |
| 3.5.3 Vitamin C Uncoated .....                         | 23        |
| <b>3.6 Sampel Penelitian.....</b>                      | <b>24</b> |
| 3.6.1 Populasi Sampel.....                             | 24        |
| 3.6.2 Jumlah Sampel.....                               | 24        |
| 3.6.3 Kriteria Sampel .....                            | 24        |
| <b>3.7 Konversi Perhitungan Dosis .....</b>            | <b>25</b> |
| <b>3.8 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>             | <b>25</b> |
| 3.8.1 Alat Penelitian .....                            | 25        |
| 3.8.2 Bahan Penelitian .....                           | 26        |
| <b>3.9 Prosedur Penelitian .....</b>                   | <b>27</b> |
| 3.9.1 Ekstrak Ikan Lemuru .....                        | 27        |
| 3.9.2 Persiapan Hewan Coba.....                        | 28        |
| 3.9.3 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba.....      | 28        |
| 3.9.4 Tahap Pembuatan Preparat Jaringan.....           | 29        |
| 3.9.5 Tahap Pengecatan <i>Haematoxilin Eosin</i> ..... | 31        |
| 3.9.6 Tahap Perhitungan Jumlah Sel Osteoblas.....      | 32        |
| <b>3.10 Alur Penelitian .....</b>                      | <b>33</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.11 Analisis Data.....                 | 34        |
| <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b> | <b>35</b> |
| 4.1 Hasil Penelitian .....              | 35        |
| 4.2 Analisis Data.....                  | 38        |
| 4.3 Pembahasan.....                     | 39        |
| <b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b> | <b>43</b> |
| 5.1 Kesimpulan.....                     | 43        |
| 5.2 Saran .....                         | 43        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>              | <b>44</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                    | <b>50</b> |



## DAFTAR TABEL

|  | Halaman |
|--|---------|
| 4.1 Jumlah Osteoblas pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan..... | 37      |
| 4.2 Hasil Uji Homogenitas.....   | 39      |
| 4.3 Hasil Uji Oneway Anova.....  | 39      |
| 4.4 Ringkasan Signifikasi Uji Beda LSD.....                            | 40      |



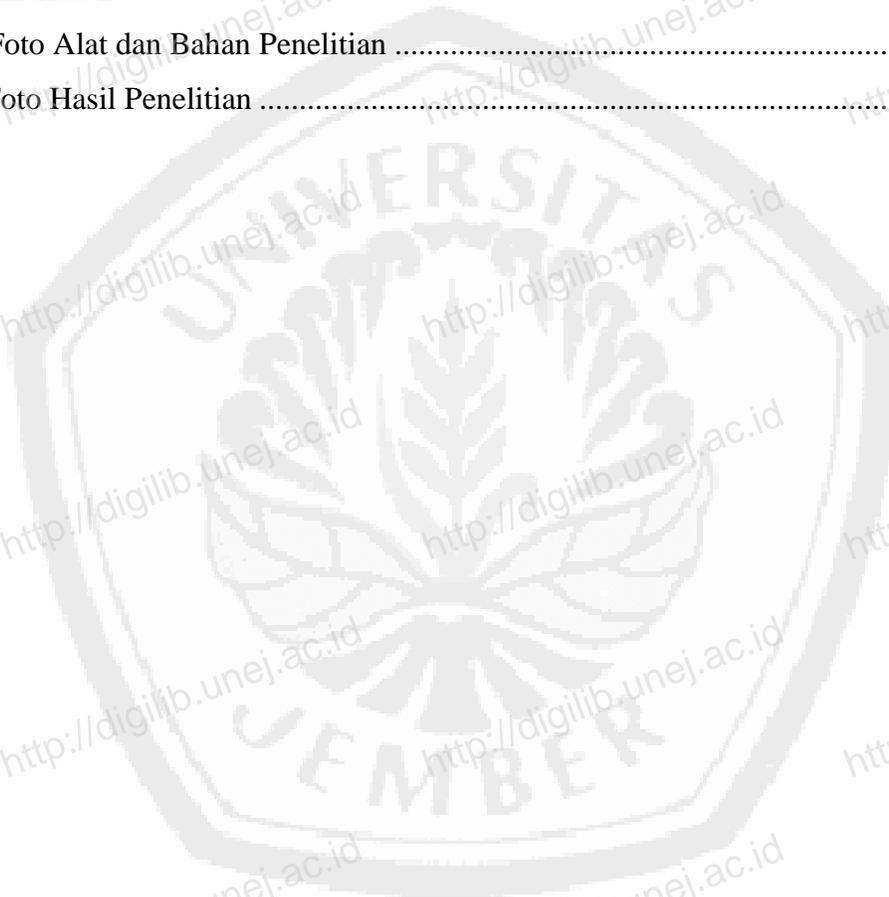
## DAFTAR GAMBAR

|  | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Ikan lemuru .....                              | 4       |
| 2.8 Kerangka Konseptual .....                      | 21      |
| 3.10 Alur Penelitian .....                         | 33      |
| 4.2 Gambar grafik rata-rata jumlah osteoblas ..... | 37      |
| 4.3 Gambar osteoblas pada tulang alveolar .....    | 38      |



## DAFTAR LAMPIRAN

|  | Halaman |
|--|---------|
| A. Surat Penelitian .....                      | 50      |
| B. Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoblas..... | 51      |
| C. Analisis Data .....                         | 60      |
| D. Foto Alat dan Bahan Penelitian .....        | 64      |
| E. Foto Hasil Penelitian .....                 | 70      |



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut di Indonesia merupakan masalah utama dan diderita oleh 90% penduduk diantaranya adalah periodontitis (Indirawati, 2002). Periodontitis adalah peradangan atau infeksi pada jaringan penyangga gigi. Apabila perlekatan antara jaringan periodontal dengan gigi mengalami kerusakan akan menyebabkan tulang alveolar mengalami resorpsi (Alwaeli, 2008). Hal ini menyebabkan bakteri menginduksi sekresi mediator peradangan pada jaringan (Carranza, 2006). Mediator peradangan terdiri dari interleukin (IL-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) dan enzim hidrolitik sehingga meningkatkan pembentukan osteoklas serta menghambat fungsi osteoblas (Carranza, 2006; Schwartz *et al*, 1997). Menurut Maheswari, periodontitis ini dapat diobati dengan pemakaian obat-obat alami.

Pemakaian obat-obatan alami perlu dikembangkan dan dimanfaatkan karena berkhasiat dan mudah untuk didapat dan yang terpenting adalah efek samping yang ditimbulkan relatif kecil dibanding obat sintetis. Adanya isu *back to nature* serta krisis berkepanjangan yang mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat menyebabkan penggunaan obat alami saat ini cenderung meningkat (Maheswari, 2002; Katno & Pramono, 2007). Minyak ikan adalah salah satu obat alami yang berasal dari biota laut yang memiliki manfaat tinggi bagi kesehatan. Khasiat yang dimiliki minyak ikan sangat banyak yaitu sebagai antiperadangan minyak ikan juga memiliki khasiat antitrombosis, antiaritmik, antiaterosklerosis, meningkatkan fungsi endotel, menurunkan tekanan darah, serta menurunkan konsentrasi trigleserida (Din *et al*, 2004).

Minyak ikan kaya akan kandungan omega-3 PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang terdiri dari EPA (*Eicosapentaenoid Acid*) dan DHA (*Docohexaenoic Acid*) (Permadi, 2003). Kandungan ini mempunyai peranan penting bagi kesehatan manusia (Harmayani, dkk., 2000). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan (Watkins, dkk., 2000), melaporkan bahwa diet yang penting untuk remodeling tulang salah satunya adalah omega-3 PUFA, oleh karena diet minyak ikan mampu meningkatkan mediator marker pembentukan tulang dan gigi. Pemberian minyak ikan lemuru menurunkan resorpsi tulang alveolaris pada tikus, oleh karena terjadinya penurunan jumlah serta aktivitas preosteoklas dan osteoklas dan aktivitas osteoblas meningkat (Indahyani, 2001; Indahyani, 2008).

Menurut Harli (1999), omega-3 yang terdapat di dalam minyak ikan ternyata bersifat sangat tidak stabil. Sel-sel tubuh yang mengandung terlalu banyak omega-3 akan lebih mudah teroksidasi oleh radikal bebas (Harli, 1999). Salah satu cara pencegahan pembentukan radikal bebas adalah dengan menggunakan zat gizi yang dapat berperan sebagai antioksidan seperti vitamin C (Atun, 2007). Vitamin C berperan sebagai pereduksi yang kuat dan dapat menghambat terjadinya radikal bebas pada tubuh (Carr *et al.*, 2000). Sehingga radikal bebas tidak merusak dan tidak mengoksidasi elektron yang ada pada molekul lain seperti DNA dan sel (Winarsi, 2007).

Osteoblas berasal dari *local pluripotent mesenchymal stem cells*, yaitu dari sel stem stromal sumsum tulang (endogenous) atau sel-sel stem mesenkim jaringan ikat (periosteum). Prekursor tersebut akan distimulasi untuk proliferasi dan berdiferensiasi menjadi preosteoblas, kemudian akan berdiferensiasi lagi menjadi osteoblas yang matur (Baron, 2006).

Berdasarkan uraian diatas, penulis ingin mengetahui pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longicep*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang diinduksi dengan LPS *E. coli*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu apakah pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longicep*) dan vitamin C berpengaruh terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang diinduksi dengan LPS E. coli.

## 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kandungan minyak ikan lemuru (*Sardinella longicep*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang diinduksi dengan LPS E. coli.

## 1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1.4.1 Dapat memberikan informasi pengaruh minyak ikan (*Sardinella longicep*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang diinduksi LPS E.coli.
- 1.4.2 Membantu masyarakat luas dan tenaga medis dalam memanfaatkan minyak ikan (*Sardinella longicep*) sebagai pengobatan alternatif dan vitamin C sebagai antioksidan.
- 1.4.3 Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dan acuan klinis maupun laboratoris untuk penelitian pengaruh minyak ikan lemuru dan vitamin C terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang diinduksi dengan diinduksi LPS E. coli.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Lemuru

Ikan lemuru merupakan hasil tangkapan terbanyak nelayan yang melaut di Selat Bali. Ikan ini banyak ditemukan di perairan Selat Bali karena terjadinya proses kenaikan air pada musim Timur, sehingga perairan ini menjadi kaya akan bahan makanan yang dibutuhkan oleh ikan lemuru (Anonim, 2002).

Ikan lemuru memiliki panjang  $\pm$  10-15 cm, tubuhnya berwarna biru kehijauan dibagian atas, putih perak pada bagian bawah, tidak terdapat bercak gelap pada sirip punggung dan pinggiran tepi sirip ekor berwarna gelap (Kimura *et al*, 2007).



Gambar 2.1 Ikan lemuru (sumber : Kimura *et al*, 2007)

### 2.2 Minyak Ikan Lemuru

Minyak ikan adalah lemak hewani berbentuk cair yang diperoleh dari ikan (Winarno, 2002). Minyak ikan berwarna kuning muda sampai kuning emas (Weiss, 1983). Minyak ini berasal dari proses pengolahan lanjut limbah ikan yang merupakan hasil ekstraksi dari pengolahan tepung ikan dan hasil samping pengolahan ikan kaleng. Selanjutnya limbah ikan akan diperas minyaknya, sehingga terbentuk minyak ikan (Wang, 1998). Minyak ikan mengandung omega-3 yang tinggi. Namun

konsumsi minyak ikan tidak boleh sembarangan. Konsumsi minyak ikan pada seseorang didasarkan pada berat badannya. Konsumsi minyak ikan berlebih dalam tubuh dapat menyebabkan sel-sel tubuh mengandung terlalu banyak omega-3 akan lebih mudah teroksidasi oleh radikal bebas (Harli, 1999).

### 2.2.1 Proses Pembuatan Minyak Ikan Lemuru

Menurut Wang (1998), tahapan proses pembuatan minyak ikan antara lain; (1) pemasakan (*cooking*) dengan menggumpalkan protein, memisahkan minyak dan air. Pemasakan merupakan tahap yang penting, dilakukan dengan pemanasan 80-90°C dalam 15-20 menit; (2) pengepresan (*pressing atau centrifugation*), melepaskan fraksi besar cairan dari massa ikan; (3) pemisahan (*separation*) cairan dari minyak, lemak dan air.

Untuk memperoleh minyak ikan yang bermutu baik, minyak dan lemak mentah harus dimurnikan dari bahan-bahan atau kotoran yang terdapat didalamnya. Tahap pemurnian minyak dalam pembuatan minyak ikan dapat dibagi menjadi beberapa tahap sebagai berikut; 1) pengendapan (*settling*) dan pemisahan (*degumming*), yang bertujuan untuk menghilangkan partikel-partikel halus yang tersuspensi atau berbentuk koloidal. Pemisahan ini dilakukan dengan pemisahan uap dan absorben; (2) netralisasi (*neutralization*) dengan alkali, bertujuan memisahkan senyawa-senyawa terlarut seperti fosfatida, asam lemak bebas, dan hidrokarbon; (3) pemucatan (*bleaching*), bertujuan menghilangkan zat-zat warna dalam minyak dengan penambahan adsorbing agent seperti arang aktif, tanah liat, atau dengan reaksi-reaksi kimia; (4) penghilangan bau (*deodorization*) lemak, dilakukan dalam botol vakum, kemudian dipanaskan dengan mengalirkan uap panas yang akan membawa senyawa volatile. Setelah proses deodorisasi, lemak harus segera didinginkan untuk mencegah kontak dengan oksigen (Winarno, 2002).

Beberapa minyak terkadang dilakukan proses hidrogenasi, winterisasi, dan emulsi. Hidrogenasi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh kestabilan terhadap oksidasi, memperbaiki warna, dan terutama mengubah lemak cair menjadi bersifat plastis. Proses selanjutnya adalah winterisasi, yang dilakukan dengan mendinginkan

lemak sampai suhu 5<sup>0</sup>C sehingga dihasilkan Kristal lemak yang kemudian dapat disaring. Proses ini bertujuan agar lemak tetap berbentuk cair pada suhu rendah (Winarno, 2002). Tahapan pengolahan minyak ikan berikutnya adalah emulsi.

Minyak ikan mentah mengandung bahan-bahan seperti fosfolipid, monogliserida, dan digleserida, asam lemak bebas, uap, lumpur, sedikit logam, protein dan pigmen (Wang, 1998). Emulsi adalah suatu dispersi atau suspensi cairan dalam cairan yang lain. Molekul-molekul kedua cairan tersebut tidak saling berbau tetapi saling antagonistik. Biasanya pada emulsi terdiri dari tiga bagian yang terdispersi yang berupa butiran-butiran lemak, media terdispersi yang biasanya terdiri dari air, dan emulsifier yang menjaga agar butiran minyak tetap tersuspensi dalam air (Winarno, 2002).

Kondisi dari bahan mentah, pemrosesan dan produksi minyak mentah, serta metode proses pemurnian merupakan faktor penting yang mempengaruhi produksi minyak ikan. Kesalahan dalam pengolahan bahan mentah menyebabkan peningkatan kandungan asam lemak bebas, peningkatan getah, dan peningkatan protein koloid serta bahan-bahan lainnya dalam minyak ikan menyebabkan sulitnya tahap pemurnian minyak ikan (Wang, 1998).

### 2.2.2 Manfaat Minyak Ikan Lemuru

Minyak ikan merupakan jenis nutrisi baru yang terbukti mempunyai manfaat tinggi bagi manusia. Kandungan dalam minyak ikan yaitu asam lemak tak jenuh ganda berantai panjang (omega-3 PUFA), telah mendapat perhatian besar bagi para ahli kesehatan. Asam lemak omega-3 merupakan salah satu kandungan minyak ikan yang sangat penting. Zat ini berperan vital untuk meningkatkan kesehatan serta mencegah munculnya penyakit generatif (Oh, 2005).

Minyak ikan ditinjau dari aspek gizi adalah: (a) mengandung asam lemak esensial (EPA) yang penting untuk mempercepat laju pertumbuhan sehingga defisiensi EPA dapat menimbulkan penyakit seperti halnya penyakit defisiensi vitamin dan mineral; (b) minyak ikan mengandung asam lemak linoleat yaitu omega-3 (Sasmito *et al*, 1996). Omega-3 yang terdapat pada minyak ikan sebagian besar

(lebih dari 60%) diperlukan sebagai unsur penyusun dinding sel neuron. Sedangkan DHA diperlukan sebagai unsur pembentuk cawan untuk wadah rhodopsin yaitu senyawa vital untuk penginderaan (Kj, 2007). Selain itu, omega-3 yang terdapat dalam minyak ikan juga bersifat anti peradangan, anti arterosklerosis, antitrombosis, meningkatkan fungsi endotel, menurunkan kadar trigleserida (Din, 2004); (c) minyak ikan juga mengandung vitamin yaitu vitamin A dan D. Vitamin A bermanfaat untuk fungsi retina, pertumbuhan tulang, diferensiasi epitel, reproduksi serta sistem imun, sedangkan vitamin D bersifat antirakhitis yang sangat bermanfaat bagi tulang (Dorland, 1998; Larsen, 2005).

Menurut Watkins, *et al.* (1996) melaporkan bahwa diet tinggi n-3 PUFA yang terkandung dalam minyak ikan, mengakibatkan rendahnya produksi PGE<sub>2</sub> pada tulang tibia ayam dan kultur organ tulang. Karena n-3 PUFA mampu menurunkan PGE<sub>2</sub> tulang, sehingga dikatakan bahwa diet n-3 PUFA meningkatkan pembentukan tulang (Watkins *et al.*, 2000). Menurut Meydani, *et al.* (1991) menunjukkan bahwa produksi sitokin yaitu IL-1 $\beta$ , IL-6 dan TNF- $\alpha$  dari sel mononuklear secara bermakna lebih rendah pada manusia setelah mengkonsumsi minyak ikan. Terjadinya penurunan PGE<sub>2</sub>, IL-1 maupun TNF- $\alpha$  yang menyebabkan pembentukan osteoklas pada tulang alveolar terhambat dan aktivitas osteoblas meningkat (Indahyani, 2008).

### 2.2.3 Sifat-sifat Minyak Ikan Lemuru

Sifat kimia minyak ikan seperti dikemukakan oleh Weiss (1983) adalah sebagai berikut, (1) mudah beroksidasi, (2) mempunyai sifat aditif karena adanya ikatan-ikatan karbon tak jenuh, dan (3) mempunyai sifat berpolimerisasi.

Sifat fisik dari minyak ikan antara lain (1) mempunyai berat jenis yang lebih kecil daripada berat jenis air, (2) membiaskan cahaya dengan sudut yang spesifik untuk tiap jenis minyak ikan, (3) mempunyai derajat kekentalan yang spesifik dan (4) lemak minyak ikan mempunyai sifat tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut *eter, benzene, petroleum eter.*

#### 2.2.4 Metabolisme Minyak Ikan Lemuru

Menurut Permadi (2002), minyak ikan kaya akan kandungan omega-3 PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) yang terdiri dari *eicosapentaenoid acid* (EPA) dan *docohexaenoic acid* (DHA). Omega-3 PUFA dari *linolenic acid* (ALA), kemudian Omega-3 PUFA tersebut diubah menjadi EPA yang memiliki rantai lebih panjang. Proses tersebut terjadi dalam *reticulum endoplasma* melalui enzim *elongase* dan *desaturase*. Omega-3 juga diubah menjadi DHA dalam jumlah kecil yang terjadi dalam peroksisom melalui serangkaian proses yang kompleks (Friedman dan Moe, 2006).

Kandungan omega-3 yang berasal dari diet minyak ikan, sebagian akan menggantikan asam arakidonat (AA) dalam membran semua sel dan secara khusus di dalam sel khususnya, eritrosit, neutropil, sel-sel retina, monosit, sel hati, sel *neuroblastoma* dan platelet (Simopoulos, 2000). Kandungan AA di dalam jaringan akan berkurang karena digantikan oleh EPA dari minyak ikan, hal ini memungkinkan bertambahnya efektivitas EPA sebagai antagonis asam arakidonat dan metabolitnya (Indahyani, 2001).

### 2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan agen pengoksidasi kuat yang dapat merusak sistem pertahanan tubuh dengan akibat kerusakan sel karena elektron yang tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas sebenarnya berasal dari molekul oksigen yang secara kimia strukturnya berubah akibat dari aktifitas lingkungan. Radikal bebas yang beredar dalam tubuh berusaha untuk mencuri elektron yang ada pada molekul lain seperti DNA dan sel. Pencurian ini jika berhasil akan merusak sel dan DNA tersebut. Jika radikal bebas banyak beredar maka akan banyak pula sel yang rusak. Kerusakan yang ditimbulkan dapat menyebabkan sel tersebut menjadi tidak stabil yang berpotensi menyebabkan proses penuaan dan kanker. Oleh karena diperlukan antioksidan sebagai senyawa pendonor elektron

kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007).

### 2.3.1 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas ini, baik endogenus maupun eksogenus terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi. Sumber radikal bebas endogenus ini sangat bervariasi. Sumber endogenus dapat melewati autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi, atau melalui ischemic. Autoksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Contohnya lemak yang memproduksi asam butanoat, berbau tengik setelah bereaksi dengan udara (Akhiajun, 2010).

Oksidasi enzimatis menghasilkan oksidan asam hipoklorit. Di mana sekitar 70-90 % konsumsi  $O_2$  oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan bersama dengan  $\cdot OH$  serta  $HOCl$  membentuk  $H_2O_2$  dengan bantuan bakteri. Oksigen dalam sistem transpor elektron menerima 1 elektron membentuk superoksida. Ion logam transisi, yaitu  $Co$  dan  $Fe$  memfasilitasi produksi singlet oksigen dan pembentukan radikal  $\cdot OH$  melalui reaksi Haber-Weiss:  $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^3+$ . Secara singkat, xantin oksida selama ischemic menghasilkan superoksida dan xantin. Xantin yang mengalami produksi lebih lanjut menyebabkan asam urat (Akhiajun, 2010).

Sumber eksogenus radikal bebas yakni berasal dari luar sistem tubuh, diantaranya sinar UV. Sinar UVB merangsang melanosit memproduksi melanin berlebihan dalam kulit, yang tidak hanya membuat kulit lebih gelap, melainkan juga berbintik hitam. Sinar UVA merusak kulit dengan menembus lapisan basal yang menimbulkan kerutan. Selain itu, sumber eksogenus seperti pencemaran udara, penipisan lapisan ozon, sumber radiasi, bahan kimia, toksin, asap rokok, mikroorganisme yang patologik, sebagian obat seperti anastesi dan pestisida serta pelarut yang digunakan untuk industri merupakan sumber eksogen radikal bebas (Akhiajun, 2010).

### 2.3.2 Mekanisme Kerusakan Sel oleh Radikal Bebas

Ada banyak jenis radikal bebas, tetapi yang paling banyak dalam sistem biologis tubuh adalah radikal yang berasal dari oksigen, dan dikenal sebagai ROS. Reactive oxygen species (ROS) menyebabkan kerusakan dengan berbagai mekanisme yaitu: (Daulay, 2011)

- a. Melalui proses peroksidasi lipid yang terjadi apabila radikal bebas seperti *hidroxyl radical* (OH) berdekatan dengan membran *phosfolipid* sehingga akan menyerang rantai lipid tersebut dan mengambil elektron dari lipid dan akan membentuk *peroxyl radical* yang mengakibatkan kerusakan sel.
- b. Merusak *deoxybonucleic acid* (DNA) dengan memutuskan rantai basis hidrosil.
- c. Merusak protein pada *proteoglycan* dan *gingival hyaluronic acid* yang diketahui dapat membantu proses penyembuhan gingivitis.
- d. Merangsang proses inflamasi dengan mengeluarkan proinflamatori sitokin dari monosit dan makrofag sehingga akan menstimulasi inflamasi secara terus menerus yang akan menyebabkan inflamasi periodontal.

### 2.3.3 Akibat Terjadinya Radikal Bebas

Radikal bebas dapat merusak berbagai senyawa kimia yaitu asam amino bebas, protein, lipoprotein, didrat aran lipid, asam nukleat dan terganggunya fungsi: (Akhiajun, 2010)

1. Membrane sel terutama komponen penyusun membrane yang berupa asam lemak tak jenuh, merupakan bagian dari fosfolipid glikolipid dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh sangat mudah di ikat oleh radikal bebas dengan membentuk suatu radikal bebas lipida. Dalam suasana aerob radikal bebas lipida bereaksi dengan molekul oksigen membentuk radikal bebas radikal lipid perolsida.,selanjutnya akan mengikat atom hydrogen dari asam lemak tak jenuh,sehingga terbentuk lipida hiperoksida yang akan dapat merusak bagian sel dimana hidroperoksia berada. Dalam tubuh radikal bebas lipida

akan terurai antarlain menjadi malondialdehida. Ini merupakan indikator bahwa dalam tubuh terdapat radikal bebas. Akibat kerusakan pada bagian dalam pembuluh darah akan memudahkan pengendapan berbagai zat pada bagian yang mengalami kerusakan, termasuk kolesterol, sehingga dimungkinkan akan timbul *artherosklerosis*.

2. Radikal bebas dapat mengakibatkan perubahan fluiditas membran sel, sehingga transport antar membran di dalam sel dan mekanisme sel terganggu.
3. Dapat melumpuhkan sistem enzim di dalam membran maupun reseptor sehingga seluruh rangkaian metabolisme terganggu.
4. Kerusakan protein, telah diketahui bahwa asam amino dan protein bereaksi dengan radikal bebas, yang akan mengakibatkan kerusakan pada jaringan dimana protein berada. Diantara asam-asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugusan *sulfhidril* (SH) yang sangat peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil.
5. Radikal bebas merupakan salah satu sebab terjadinya mutasi spesifik pada DNA yang akan dapat menyebabkan penyakit kanker. Kerusakan dapat terjadi pada awal fase transisi dan permanen. Radikal hidroksil dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA yang antara lain berupa hidrosilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester.
6. Radikal bebas akan dapat merusak lipid sehingga terbentuk lipid peroksida yang dapat menyebabkan penyakit jantung koroner.
7. Radikal bebas dapat menyebabkan autoimun. Pada keadaan normal antibodi terbentuk bila ada antigen yang masuk dalam tubuh. Adanya antibodi untuk sel tubuh akan dapat merusak jaringan tubuh dan sangat berbahaya.
8. Radikal bebas dapat merubah tonus otot pembuluh darah. Anion superoksida secara tidak langsung dengan *inaktivasi sindhotelium-derived relaxing factor* (EDRF) atau dengan merusak repinephrin. Radikal bebas hidriksil

menyebabkan vasodilatasi dengan bekerja langsung pada otot polos, pembuluh darah dan merangsang sel endothelium untuk melepaskan “*nonprostanoid relaxing factor*”.

9. Radikal bebas oksigen sangat berperan pada gagal jantung. Pada gagal jantung terjadi gangguan dari interaksi miokard. Radikal bebas oksigen akan mencegah ikatan “Ca” oleh reticulum sarcoplasma miosit sehingga dapat menurunkan kemampuan kontraksi dari jantung.

10. Oksigen reaktif merupakan oksidan yang kuat. Dampak negative timbul karena reaktivitasnya sehingga dapat merusak komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel. Sedangkan diantara oksigen reaktif yang paling berbahaya adalah radikal hidroksil yang dapat merusak tiga senyawa penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu asam lemak, DNA, dan protein.

## 2.4 Vitamin C

Vitamin c bisa didapatkan di kehidupan sehari-hari seperti jeruk, tomat, nanas, jambu klutuk, kol, sayur, dll. Menurut Nizel, dkk (1996) manusia yang tidak mengkonsumsi vitamin c selama 45 sampai 80 hari akan mengalami tanda-tanda klinis seperti rasa lelah berkepanjangan diikuti dengan perdarahan pada gusi, wajah menjadi pucat, perdarahan dibawah kulit, tukak, dan pada akhirnya menyebabkan kematian (Almatsier, 2003).

Sumber vitamin c antara lain jeruk, pepaya, anggur, mangga, jambu monyet, jambu biji, nanas, rambutan. Kita dapat memperoleh vitamin c dari sayuran yang berupa daun singkong, daun ketuk, daun melinjo, daun pepaya, sawi, kol, tomat masak, kangkung, bayam, kemangi, dan masih banyak lagi yang lainnya.

### 2.4.1 Definisi dan Sifat Vitamin C

Vitamin c adalah kristal putih yang dapat mudah larut dalam air (Almatsier, 2003). Mudah mengalami oksidasi pada temperatur yang tinggi. Juga bereaksi dengan ion-ion metal yaitu  $Fe^{++}$ ,  $Fe^{+++}$  dan  $Cu^{++}$  (Williams & Delvin, 1996). Dalam keadaan

kering vitamin c cukup stabil. Vitamin c tidak stabil dalam larutan alkali tetapi cukup stabil dalam larutan asam. Jadi vitamin c merupakan vitamin yang paling labil. Vitamin c bekerja sebagai suatu koenzim dan pada keadaan tertentu merupakan reduktor dan antioksidan (Ganiswarna dkk, 2001).

#### 2.4.2 Fungsi Vitamin C

Vitamin c mempunyai fungsi yang menyangkut berbagai aspek metabolisme yang terjadi di dalam tubuh antara lain sebagai elektron transport dalam suatu sistem redoks, contohnya sistem kolagen (Combs *dalam* Harijanti, 1996). Proses metabolisme yang begitu banyak di dalam tubuh kita ini dipengaruhi oleh vitamin c, namun mekanismenya belum diketahui dengan pasti (Almatsier, 2003). Peranan metabolik yang sangat spesifik dari vitamin c adalah pada proses hidrosilasi dari prolin menjadi hidrosoprolin dan lisin menjadi hidrosilisin pada proses pembentukan kolagen (Dolby dkk *dalam* Harijanti, 1996).

Vitamin c merupakan kebutuhan penting untuk pembentukan kolagen, suatu protein penting yang digunakan untuk membentuk kulit, tendon, ligamen, dan pembuluh darah. Vitamin c juga dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan di seluruh bagian dari tubuh kita sehingga penting untuk proses penyembuhan luka, sebagai antioksidan dan untuk perbaikan serta pemeliharaan kartilago, tulang dan gigi. Tanpa asam askorbat maka serat kolagen yang terbentuk dalam semua jaringan tubuh menjadi cacat dan lemah (Guyton, 1997).

Seperti yang telah disebutkan diatas bahwa vitamin c juga berperan dalam penyembuhan dan perbaikan dari kartilago, tulang dan gigi. Terdapat bukti-bukti yang kuat secara *in vitro* menunjukkan bahwa diferensiasi kondrosit dan osteoblas dari stem cell prekursor membutuhkan vitamin c (Frencheschi *dalam* Harijanti, 1996). Sehingga untuk mempercepat proses penyembuhan luka khususnya pada tulang bisa diberikan vitamin c sebagai perawatan suportif. Pada fraktur tulang, kekurangan vitamin c akan menyebabkan osteoblas tidak dapat membentuk matriks tulang yang baru sehingga tulang yang baru sehingga tulang yang fraktur tidak dapat sembuh (Guyton, 1997).

Selain fungsi diatas sebagai pembentuk kolagen, vitamin c juga berfungsi sebagai berikut :

1. Sintesis karnitin, noradrenalin, serotonin, dll
2. Absorpsi dan metabolisme besi  
pada saat mengkonsumsi vitamin c maka feri direduksi menjadi fero dalam usus halus sehingga mudah di absorpsi.
3. Absorpsi kalsium  
vitamin c membantu absorpsi kalsium kolagen dengan menjaga agar kalsium berada dalam bentuk larutan.
4. Mencegah infeksi  
vitamin c meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi
5. Mencegah kanker dan penyakit jantung  
vitamin c dapat mencegah pembentukan nitrosamin yang berbentuk karsinogenik (Almatsier, 2003). Akan tetapi pemberian vitamin c mega dosis tidak terbukti efektif untuk aterosklerosis, penyembuhan luka dan skizofrenia serta kanker lanjut (Ganiswarna dkk, 2001).

#### 2.4.3 Metabolisme Vitamin C

Absorpsi vitamin c sangat mudah pada bagian atas usus halus lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Vitamin c kemudian dibawa ke semua jaringan. Konsentrasi tertinggi vitamin terdapat dalam jaringan adrenal, pituitari dan retina (Almatsier, 2003).

#### 2.4.4 Peranan Vitamin C sebagai Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Vitamin c atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (Zakaria *et al*, 1996). Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi

kapasitas antioksidan dalam tubuh sehingga tubuh tidak dapat menetralsirnya (Daulay, 2011) .

Sebagai antioksidan, vitamin c bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Cu. Selain itu, vitamin c juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler. Diluar sel, vitamin c mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif (Levine *et al.*, 1995).

Asam askorbat dapat langsung menangkap radikal bebas oksigen, baik dengan atau tanpa katalisator enzim. Reaksinya terhadap senyawa oksigen reaktif lebih cepat dibandingkan dengan komponen lainnya. Askorbat juga melindungi makromolekul penting dari oksidatif. Reaksi terhadap radikal hidroksil terbatas hanya melalui proses difusi (Belleville-Nabeet,1996). Oleh karena kemampuan vitamin c sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.* 2007).

## **2.5 Periodontitis**

Periodontitis merupakan suatu penyakit peradangan yang terjadi pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu yang mengakibatkan kerusakan yang progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan terbentuknya poket, resesi, atau kedua-duanya. Jaringan penyangga gigi atau jaringan periodontal terdiri dari ligamen periodontal, sementum, tulang alveolar dan gingiva (Carranza *et al.*, 2006).

### **2.5.1 Etiologi Periodontitis**

Periodontitis adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri-bakteri spesifik yang terdapat di dalam plak gigi, terutama bakteri anaerob gram negatif (Darveu *et al* dalam Haniastuti, 2003). Mikroba yang terdapat pada plak gigi adalah faktor etiologi utama dari periodontitis, walaupun faktor lokal dan sistemik juga berperan penting dalam patogenesis dari penyakit periodontal. Faktor sistemik yang beresiko terhadap terjadinya penyakit periodontitis meliputi diabetes, perokok

*cigarette*, dan usia lanjut. Tetapi peran virulensi bakteri patogen saja belum cukup untuk menyebabkan tercetusnya penyakit periodonsium (Takada *et al*, 2004).

Faktor-faktor virulensi bakteri merupakan antigen yang akan mengaktifkan limfosit dengan akibat dilepaskannya mediator-mediator limfokin seperti interleukin, interfeon, prostaglandin E. Bahan IL-1 berperan penting dalam regulasi imunologik, reaksi-reaksi inflamasi, resorpsi tulang, dan dalam patogenesis penyakit periodontal destruktif (Mustaqimah, 1997).

### 2.5.2 Gejala Periodontitis

Jenis Periodontitis yang paling umum ditemui adalah periodontitis kronis. Pasien akan menyadari pertama kali terjadinya periodontitis kronis ketika gusi berdarah pada saat penyikatan atau makan dan merasakan adanya ruang antar gigi yang disebabkan pergerakan gigi. Karena periodontitis kronis biasanya tidak terasa maka biasanya pasien tidak menyadari penyakit ini. Adanya daerah impaksi makanan menambah ketidaknyamanan pasien. Namun rasa sakit dan gatal pada gusi juga mungkin terjadi (Carranza *et al.*, 2006).

Secara klinis periodontitis dibedakan dengan gingivitis berdasarkan adanya kehilangan perlekatan. Hal ini sering disertai dengan pembentukan poket periodontal, resesi atau keduanya. Pada beberapa kasus, resesi margin gingiva menyertai hilangnya perlekatan, sehingga jika pengukuran kedalaman poket dilakukan tanpa pengukuran level perlekatan klinis maka akan menutupi perkembangan penyakit yang sedang terjadi. Tanda-tanda klinis dalam peradangan seperti perubahan warna, kontur, konsistensi, dan perdarahan saat probing tidak selalu positif menunjukkan hilangnya perlekatan. Sebaliknya, adanya perdarahan berkelanjutan saat probing pada beberapa kali kunjungan menjadi indikator terpercaya tentang adanya inflamasi dan potensi terjadinya kehilangan perlekatan pada area perdarahan. Kehilangan perlekatan pada periodontitis memperlihatkan peningkatan aktivitas penyakit baik secara kontinyu maupun pada periode tertentu (Carranza *et al.*, 2006 dan Djais, 2006).

Secara rongenologis akan tampak rusaknya lamina dura pada sisi mesial dan distal puncak septum interdental yang menandai awal terjadinya periodontitis. Area

radiolusen terbentuk pada mesial atau distal dari puncak tulang septal. Proses destruksi pada puncak septum interdental menyebabkan tinggi tulang berkurang dan perubahan densitas tulang serta tinggi tulang alveolar (Carranza et al., 2006).

### 2.5.3 Mekanisme Periodontitis

Bakteri dapat menyebabkan penyakit periodontal dengan cara tidak langsung, yaitu dengan cara menekan proses pertahanan tubuh atau secara langsung yaitu dengan cara mengeluarkan enzim atau substansi toksin lain yang dapat menghancurkan jaringan periodontal. Bakteri tersebut dapat menginfeksi *host* dengan cara: (1) membunuh sel-sel fagosit dengan substansi-substansi cair yang dikeluarkannya, (2) mencegah proses khemotaksis, (3) mencegah adsorpsi bakteri ke permukaan sel-sel fagosit, (4) mencegah proses fagositosis, (5) mencegah fusi lisosom dengan vakuol fagosit, (6) menghindari fagosom, dan (7) resisten terhadap efek ligolisosom, dapat diikuti dengan berkembangnya bakteri-bakteri di dalam sel-sel fagosit (Carranza, 1990).

### 2.5.4 Patogenesis Periodontitis

Faktor bakteri plak merupakan faktor utama terjadinya periodontitis. Potensi patogenik dari bakteri yang khas bervariasi antara individu yang satu dengan yang lain (Djais, 2006). Bakteri yang paling banyak berperan terhadap timbulnya periodontitis adalah bakteri Gram negatif, diantaranya yaitu *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, dan *Tannerella forsythia* (Carranza et al, 2006, Djais, 2006 dan Fitria, 2006).

Pada kondisi normal bakteri Gram negatif berkolonisasi didekat atau diatas supragingiva dengan melekatkan diri pada reseptornya diatas bakteri Gram positif. Bakteri plak berkembang pada margin gingiva meluas ke dalam subgingiva, menyebabkan kerusakan sel epitel. Bakteri Gram negatif anaerob ini, mengeluarkan endotoksin biologi aktif atau lipopolisakarida (LPS) yang menyebabkan aktivitas biologis tertentu (Djais, 2006).

Pelepasan endotoksin LPS dari dinding sel bakteri Gram negatif anaerob menyebabkan aktivitas biologis yang merusak jaringan. Endotoksin mempunyai

kemampuan yang tinggi sebagai substansi toksik yang memberikan efek langsung terhadap jaringan dan pada aktivasi respons *host*. Hal ini dapat secara berlanjut mengakibatkan ulserasi gingiva berupa oedema, perdarahan, nyeri lokal sekeliling gigi. Peranannya yang penting dalam periodontitis adalah kemampuan LPS untuk mensintesis proinflamatori, interleukin (IL-1), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) dan enzim hidrolitik (Carranza, 2006).

IL-1 adalah sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan sel-sel jaringan ikat. IL-1 memiliki fungsi sebagai stimulator poten dari resorpsi tulang alveolar dan dapat meningkatkan jumlah osteoklas. IL-1 ini dapat merangsang prostaglandin, proteinase, dan aktivator plasminogen dari sel-sel jaringan ikat. Proteinase yang berasal dari osteoblas ini fungsinya menghancurkan osteoid yang tidak termineralisasi dan akhirnya diresorpsi oleh osteoklas. Osteoklas mempunyai aksi melarutkan mineral tulang alveolar, yang dirangsang oleh sekresi asam (Meikle *dkk* dalam Manson, 1993). Sekresi asam ini berasal dari substansi bakteri plak, sedangkan bakteri plak disini terdiri dari LPS dan *lipoteichoic acid* (Hausmann dalam Manson, 1993).

PGE<sub>2</sub> berperan penting dalam patogenesis penyakit periodontal, karena menyebabkan destruksi tulang alveolar yang merupakan salah satu ciri utama dari penyakit ini. Mekanisme pengaruh PGE<sub>2</sub> terhadap regulasi fungsi sel diperkirakan melalui transport aktif metabolit PGE<sub>2</sub> ke dalam sel atau melalui transduksi sinyal setelah berikatan dengan reseptor membran sel. Ikatan antara PGE<sub>2</sub> dengan reseptornya akan memicu terbentuknya sitokin-sitokin misalnya IL-1, IL-6 dan TNF- yang juga berperan penting dalam resorpsi tulang (Haniastuti, 2003).

Sekresi mediator peradangan seperti sitokin proinflamasi dan prostaglandin akan memberikan respons terproduksinya beberapa *matrix metalloproteinase* (MMPs). MMPs dikeluarkan sebagai proenzim tidak aktif terutama dari fibroblas (MMP-1) dan leukosit, termasuk monosit (MMP-1) dan neutrofil (MMP-8), yang menyebabkan destruksi jaringan ikat periodontal (fibroblas) dan resorpsi tulang alveolar pada kondisi periodontitis (Carranza, 2006). Sitokin proinflamasi adalah molekul yang melakukan komunikasi antar sel, peranannya penting dalam beberapa

proses perkembangan embriogenik, tumorigenesis, infeksi dan alergi (Seymour, *et al*, 1995). Sitokin berperan penting pada patologi tulang, dihubungkan dengan destruksi tulang pada inflamasi kronis yang bersifat lokal dengan meningkatkan pembentukan osteoklas diferensiasi, aktivasi secara langsung menghambat fungsi osteoblas (Schwartz, *et al*, 1997; Ne *et al*, 1999).

## 2.6 Tulang

Tulang merupakan jaringan yang paling keras atau kaku di dalam tubuh manusia. Jaringan ini mengandung sel-sel dan matriks inter sel. Matriks ini mengandung unsur organik yaitu terutama serat-serat kolagen dan unsur anorganik yang merupakan dua pertiga berat tulang itu (Leeson dkk, 1996). Tulang terdiri atas osteoblas, osteoklas osteoid, mineral dan kolagen. Sel yang berkaitan dengan proses resorpsi tulang adalah osteoklas (Mustaqimah, 2002). Sel yang bertanggung jawab untuk pembentukan tulang adalah osteoblas (Wikipedia, 2012).

## 2.7 Osteoblas

Osteoblas adalah sel pembentuk tulang yang berasal dari prekursor sel stroma di sumsum tulang. Sel ini berdiferensiasi menjadi osteosit (Ganong, 2003). Osteoblas berbentuk kubus atau trapesium dengan adanya tonjolan-tonjolan kecil dengan inti yang besar dan biasanya mempunyai satu anak inti. Osteoblas terletak pada permukaan jaringan tulang berdampingan seperti pada epitel selapis, memiliki ukuran 15-20  $\mu\text{m}$  (Junqueira *et al*, 1998).

Osteoblas berasal dari lokal *pluripotent mesenchymal stem cell*, yaitu dari sel stem stromal sumsum tulang (endogenous) atau sel-sel stem mesenkim jaringan ikat (periosteum). Prekursor tersebut akan distimulasi untuk berproliferasi menjadi preosteoblas, kemudian akan berdiferensiasi lagi menjadi osteoblas yang matur (Baron, 2006).

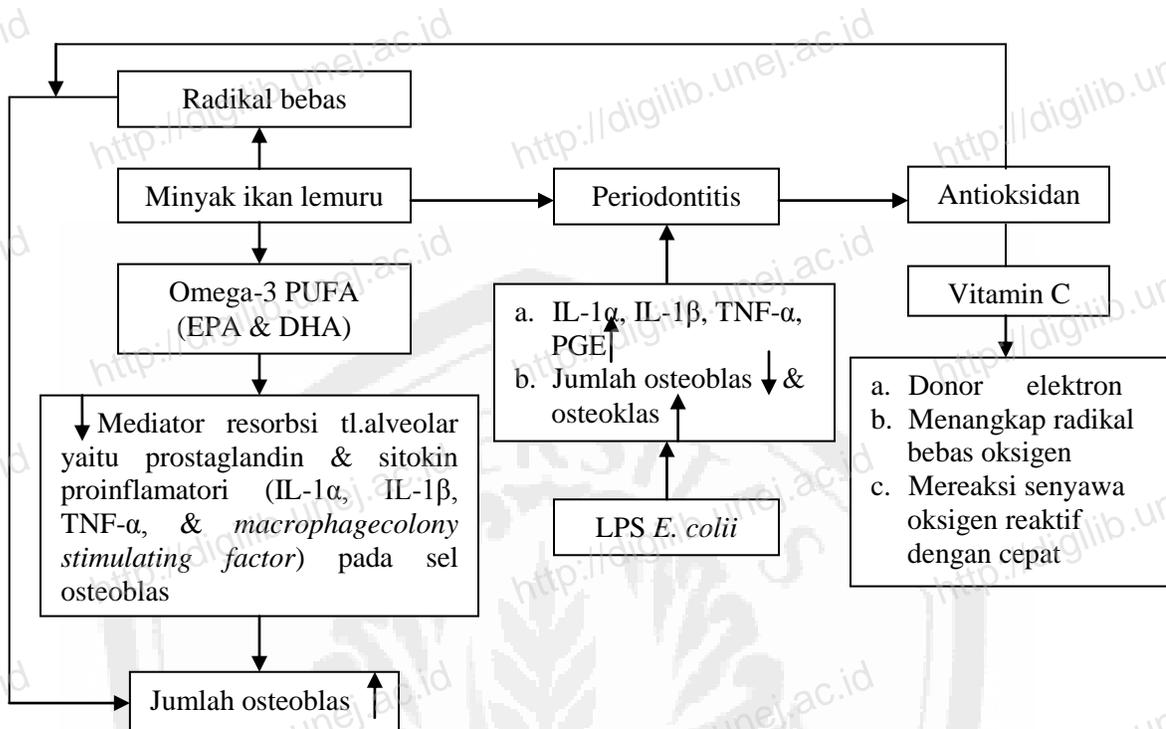
Selama perkembangan dan maturasi, osteoblas mengekspresikan gen-gen yang spesifik. Osteoblas tidak pernah nampak atau berfungsi secara individual, tetapi

selalu dalam kelompok-kelompok sel kuboid disepanjang permukaan tulang (100-400 sel/daerah pembentukan tulang). Osteoblas yang matur akan mensekresikan osteoid, kolagen tipe I, faktor pertumbuhan, alkalin fosfatase. Proses pembentukan tulang terjadi melalui tiga proses yaitu produksi dan maturasi matriks osteoid yang kemudian dilanjutkan dengan mineralisasi (Baron, 2006).

Osteoblas terdapat pada sisi tulang yang mengalami pembentukan dimana secara aktif terjadi sintesis dan pembentukan matriks organik yang disebut osteoid yang terdiri dari kolagen tipe 1 dan protein nonkolagen (Watkins *et al.*, 2000). Penambahan unsur organik pada tulang bergantung pada adanya osteoblas yang aktif (Junqueira *et al.*, 1998).

Pada sintesis matriks tulang, osteoblas mengatur aktifitas alkaline phosphatase dan memproduksi banyak faktor regulasi, termasuk prostaglandin, sitokin dan faktor pertumbuhan (Watkins *et al.*, 2000). Osteoblas memproduksi dan memineralsasi matriks tulang sedangkan osteoklas menyebabkan resorpsi tulang (Baron *at al.*, 1993). Kombinasi dan aktifitas kerjasama antara osteoblas dan osteoklas menghasilkan arsitektur tulang yang memberikan dukungan mekanik dan perlindungan terhadap tubuh (Watkins *et al.*, 2000).

## 2.8 Kerangka Konseptual



## 2.9 Hipotesis

Minyak ikan lemuru dan vitamin c sebagai antioksidan dapat meningkatkan jumlah osteoblas pada tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis.

## **BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

### **3.2 Rancangan penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan *The Posttest Only Control Design Group*. Dalam rancangan penelitian ini diukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol dan tidak dilakukan *pretest* (Notoatmodjo, 2010).

### **3.3 Tempat Dan Waktu Penelitian**

#### **3.3.1 Tempat penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### **3.3.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-April 2012.

### **3.4 Variabel Penelitian**

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longicep*) dan vitamin C uncoated.

#### **3.4.2 Variabel Terikat**

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah sel osteoblas pada tikus wistar jantan yang diinduksi dengan LPS *E. coli*.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Umur, berat badan, kesehatan, makan dan minum tikus wistar jantan.
- b. Cara pemberian minyak ikan lemuru
- c. Cara pemberian vitamin C
- d. Cara menginduksi LPS *E.colli*

## 3.5 Definisi Operasional Penelitian

### 3.5.1 Osteoblas

Osteoblas memiliki ciri khas berbentuk kubus atau trapesium dengan inti yang besar dan biasanya mempunyai satu anak inti sel. Osteoblas ini terletak pada permukaan tulang.

### 3.5.2 Jumlah Osteoblas

Jumlah osteoblas adalah banyaknya osteoblas yang terdapat pada jaringan tulang alveolar rahang bawah dalam sediaan histologi. Jumlah osteoblas sampel ditentukan dengan menghitung jumlah osteoblas dari 6 lapang pandang secara acak tiap preparat dan terdapat 3 observer menggunakan mikroskop binokuler.

### 3.5.3 Minyak Ikan Lemuru

Minyak ikan lemuru yaitu lemak yang berbentuk cair dan berwarna kuning, hasil ekstrak ikan lemuru yang berasal dari Muncar Banyuwangi. Minyak yang berasal dari rebusan ikan lemuru kemudian dilakukan pemerasan dan dipisahkan dari lemak dan air.

### 3.5.4 Vitamin C uncoated

Vitamin C uncoated yang berupa bubuk berwarna putih. Kemudian vitamin C uncoated dilarutkan dengan aquadest, dan dilakukan pemberian larutan vitamin C secara peroral menggunakan sonde lambung pada tikus wistar jantan dengan takaran 0,0054 mg/g BB tikus.

### 3.6 Sampel Penelitian

#### 3.6.1 Populasi Sampel

Populasi dan subyek penelitian adalah tikus putih jenis Wistar kelamin jantan (*Rattus norvegicus*).

#### 3.6.2 Jumlah Sampel

Jumlah ulangan dalam tiap kelompok perlakuan menurut Hanafiah (2005):

$$(t-1)(r-1) > 15 \quad r > \{15:(t-1)\}+1$$

Keterangan:

r = jumlah ulangan sampel

t = jumlah perlakuan

Perhitungan:

$$(r-1)(8-1) > 15$$

$$r > \{15:(8-1)\}+1$$

$$r > (15:7)+1$$

$$r > 2,14+1$$

$$r > 3,14$$

$$r > 3 \text{ ekor}$$

Dari perhitungan diperoleh besar sampel tiap kelompok perlakuan adalah 8 ekor. Sampel dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Empat kelompok ini dibagi kembali menjadi dua kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Sehingga didapatkan total sampel sejumlah 24 ekor tikus.

#### 3.6.3 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan dengan kriteria sebagai berikut:

- a. Berat badan 150-200 gram
- b. Umur 8 minggu (2 bulan)
- c. Dalam keadaan sehat

### 3.7 Konversi Perhitungan Dosis

a. Perhitungan dosis minyak ikan

1 ml/150-200 gram berat badan tikus (Indahyani, 2007a)

b. Perhitungan dosis LPS

5  $\mu$ g LPS/0,05 ml PBS (Indahyani, 2007a)

c. Perhitungan dosis vitamin C

Dosis vitamin C untuk orang dewasa 60 mg/70 kg BB. Konversi dosis manusia  $\pm$ 70 kg ke tikus 200 g = 0,018, sehingga dosis vitamin C ke tikus adalah:

$$= 0,018 \times 60$$

$$= 1,08 \text{ mg}/200 \text{ gr BB/hari}$$

$$= 0,0054 \text{ mg/gr BB tikus (Wattimena dan Widiyanto, 1993)}$$

d. Perhitungan dosis kelatalar yang disuntikkan

$$\text{Ketalar (X)} = \frac{90}{1000} \times \text{berat badan tikus}$$

$$\text{Aquabides (Y)} = \frac{1}{3} X$$

$$\text{Dosis anestesi} = (X+Y) \text{ mg/gr}$$

### 3.8 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.8.1 Alat Penelitian

a. Kandang yang terbuat dari ember plastik persegi empat berukuran 41x32x11 cm dengan tutup dari anyaman kasa

b. Tempet makan dan minum untuk tikus

c. Timbangan Neraca (*Ohaus, Germany*)

d. Sarung tangan (*Everglove*)

e. Sonde lambung dengan diameter kanula 0,5 mm

f. Mikroskop binokuler (*Leica, USA*)

g. *Object glass* dan *deck glass*

h. *Disposable syringe insulin* (1ml) (*Teruno, Japan*)

- i. Masker (Diapro)
- j. Labu ukur 100 ml (Herma)
- k. Kain Saring
- l. Timbangan Analitik (0,0000) (*Ohaus, Germany*)
- m. Spatula
- n. Pipet
- o. *Bekker Glass* 50 ml (*Pyrex, Japan*)
- p. Alat Pengaduk
- q. Gunting
- r. Tissue
- s. Pinset ukuran kecil
- t. Alat cetak
- u. Kaca
- v. Mikrotom
- w. Sentrifuse (*EBA, Germany*)
- x. Tabung sentrifuse (*Pyrex, Japan*)
- y. Corong pisah (*Duran, Germany*)
- z. Bunsen

### 3.8.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus wistar jantan umur 8 minggu (2 bulan)
- b. Minyak ikan lemuru
- c. Makanan standar untuk tikus (Pokpand)
- d. Ketamin
- e. LPS *E. coli*
- f. Cat *haematoxylin eosin*
- g. *Xylol*
- h. Alkhohol 70%, 80%, 95%, 96%
- i. Larutan formalin buffer 10%
- j. Parafin

- k. Aquades
- l. Air
- m. Formaldehyde 10%
- n. *Formic acid* 50%
- o. Gliserin
- p. *Egg albumin*
- q. Balsam kanada
- r. Minyak emersi
- s. NaCl 0,9%
- t. Vitamin C uncoated
- u. Kain saring
- v. *Eter chloride*
- w. Aquabidest
- x. Entellan

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Ekstrak Ikan Lemuru

- a. Ikan lemuru dicuci dengan air sampai bersih. Kemudian isi perut ikan dikeluarkan dari perutnya dan cuci kembali dengan air sampai bersih.
- b. Ikan lemuru yang sudah bersih, dipotong menjadi 2 bagian.
- c. Rebus ikan lemuru yang sudah dipotong menjadi 2 bagian tersebut dengan 10 L aquades sehingga ikan lemuru tenggelam dalam aquades dengan suhu kira-kira 80-90°C sambil di aduk-aduk terus. Rebus hingga minyak ikan muncul dipermukaan.
- d. Setelah itu rebusan ikan lemuru disaring dan diperas dengan kain saring.
- e. Hasil saringan tersebut dicampur dengan NaCl 5%, kemudian ambil minyak ikannya yang terdapat pada permukaan panci dengan gelas.
- f. Masukkan ke corong pisah dengan menggunakan corong dan kemudian air dalam corong pisah dibuang.

- g. Ambil minyak ikan dalam corong pisah dengan menggunakan tabung sentrifuse. Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 8.000 rpm selama 3 menit.
- h. Setelah disentrifuse, pada tabung sentrifuse terdapat 3 bagian. Atas minyak ikan, tengah lemak dan bawah air. Tuang minyak ikan yang sudah murni dalam tabung sentrifuse pada tabung.

### 3.9.2 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasikan dengan lingkungan baru  $\pm$  1 minggu. tikus diberi makanan ayam (pelet) dan diberi minum (air) setiap hari. Hal ini bertujuan untuk memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian dan untuk mengontrol hewan coba.

### 3.9.3 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba tikus wistar jantan sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok yaitu sebagai berikut:

- a. Kelompok I, merupakan kelompok kontrol negatif yang terdiri dari 3 ekor hewan coba. Pada kelompok ini tidak diberi LPS *E. coli*, minyak ikan lemuru dan vitamin C. Hanya diberi larutan saline normal (NaCl 0,9%) secara peroral pada tikus dan dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.
- b. Kelompok II, merupakan kontrol positif yang terdiri dari 3 ekor hewan coba. Kemudian pada tikus wistar jantan diinduksi dengan LPS *E. coli* dengan dosis 5  $\mu$ g LPS/0,03 ml PBS bagian sulkus gingiva antara distal gigi molar pertama dan mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanan dalam keadaan tikus tidak sadar kemudian dibuka mulutnya secara hati-hati dengan pinset ukuran kecil, agar diperoleh lapangan pandang lebih luas di daerah bukal fold. Syring insulin yang telah diisi LPS diinjeksikan sehari sekali selama 5 hari. Kemudian dikorbankan pada dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.
- c. Kelompok III, merupakan kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor hewan coba. Kemudian pada tikus wistar jantan diinduksi dengan LPS *E. coli*

dengan dosis 5  $\mu$ g LPS/0,03 ml PBS bagian sulkus gingiva antara distal gigi molar pertama dan mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanan dalam keadaan tikus tidak sadar kemudian dibuka mulutnya secara hati-hati dengan pinset ukuran kecil, agar diperoleh lapangan pandang lebih luas di daerah bukal fold. Syring insulin yang telah diisi LPS diinjeksikan sehari sekali selama 5 hari. Pada hari ke-6, diberi minyak ikan lemuru secara peroral menggunakan sonde lambung setiap hari dengan dosis 1 ml/150-200 gram BB dan kemudian dikorbankan pada pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.

- d. Kelompok IV, merupakan kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor hewan coba. Kemudian pada tikus wistar jantan diinduksi dengan LPS *E. coli* dengan dosis 5  $\mu$ g LPS/0,03 ml PBS bagian sulkus gingiva antara distal gigi molar pertama dan mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanan dalam keadaan tikus tidak sadar kemudian dibuka mulutnya secara hati-hati dengan pinset ukuran kecil, agar diperoleh lapangan pandang lebih luas di daerah bukal fold. Syring insulin yang telah diisi LPS diinjeksikan sehari sekali selama 5 hari. Pada hari ke-6, beri minyak ikan lemuru secara peroral menggunakan sonde lambung setiap hari dengan dosis 1 ml/150-200 gram BB. Setelah diberi minyak ikan lemuru, tikus wistar jantan ini diberi vitamin C uncoated secara peroral dengan dosis 0,0054 mg/g BB tikus setiap hari kemudian dikorbankan pada pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*. Setelah dikorbankan tulang alveolar rahang bawah direndam dengan formalin selama  $\pm$  2 hari.

#### 3.9.4 Tahap Pembuatan Preparat Jaringan

Pembuatan preparat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut (Erna, 2002; Sheldon dan Sommers, 1995).

- a. Dilakukan pengambilan tulang alveolar rahang bawah untuk dibuat sediaan.
- b. Tulang alveolar difiksasi dengan menggunakan larutan *formalin* 10% selama minimal 24 jam.

- c. Setelah difiksasi, tulang alveolar dicuci dengan air mengalir.
- d. Selanjutnya dilakukan proses dekalsifikasi. Proses dekalsifikasi ini menggunakan asam formic 10% yang dibuat dari asam format sebanyak 10 ml dilarutkan pada aquades steril sebanyak 90 ml. Proses dekalsifikasi ini dilakukan selama  $\pm$  1 minggu. Larutan dekalsifikasi ini harus diganti setiap hari untuk mendapatkan hasil dekalsifikasi yang baik. Setelah proses dekalsifikasi selesai, maka dilakukan pencucian pada air mengalir selama 3-8 jam untuk menghilangkan sisa dari bahan dekalsifikasi.
- e. Dehidrasi dengan konsentrasi alkohol yang meningkat sampai alkohol 100%. Dehidrasi dimulai dengan alkohol 70% selama  $\pm$ 15 menit, 80% selama 1 jam, alkohol 95% sebanyak dua kali pada dua tabung dengan ketentuan waktu selama 2 jam dan 1 jam, dan alkohol 100% sebanyak tiga kali pada tiga tabung dengan ketentuan waktu masing-masing selama 1 jam.
- f. Clearing (proses penjernihan) dengan memasukkan tulang alveolar dalam *xylol* (*clearing*) sebanyak tiga kali pada tiga tabung yang berbeda dengan ketentuan waktu 1 jam, 2 jam, dan 2 jam.
- g. Impregnasi yaitu proses infiltrasi bahan embedding dalam jaringan pada suhu  $56^{\circ}$ - $60^{\circ}$ C, caranya jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sample, kemudian dimasukkan ke dalam bahan embedding yaitu parafin dengan suhu  $56^{\circ}$ - $60^{\circ}$ C sebanyak tiga kali dimasukkan dalam tiga tabung dengan ketentuan waktu masing-masing selama 2 jam.
- h. Penanaman dalam parafin (*embedding*)
  1. Alat cetak yang terbuat dari logam berbentuk siku-siku (persegi panjang). Alat dan alas diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dengan blok parafin yang sudah beku.
  2. Parafin cair dalam dua wadah, yaitu untuk bahan *embedding* dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur yang akan ditanam.

3. Parafin cair pada tempat pertama dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh pada permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dan bagian permukaan jaringan yang menempel pada kaca diusahakan rata.

i. Pembuatan preparat jaringan dengan pemotongan blok parafin menggunakan mikrotom.

1. Bila parafin sudah cukup keras, alat cetak dilepaskan dan blok parafin diberi label dan siap disayat.

2. Blok parafin ditempelkan pada alat pemegangnya yang berupa lempengan logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong, kemudian didinginkan sampai suhu kamar agar tidak melekat erat.

3. Pisau mikrotom dipasang pada pegangannya, membentuk sudut  $50^{\circ}$ - $10^{\circ}$ . Pisau harus tajam dan permukaannya harus benar-benar rata.

4. Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis, yaitu 5 mikron.

j. Potongan tipis yang sudah diseleksi diletakkan di atas permukaan air waterbath dengan temperatur tetap  $56^{\circ}$ - $58^{\circ}$ C. Potongan tersebut dipindahkan pada *object glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin* dan dikeringkan dengan *hotplate* dengan suhu sekitar  $30^{\circ}$ - $35^{\circ}$ C, minimal selama 12 jam.

### 3.9.5 Tahap Pengecatan *Haematoxilin Eosin*

Pengecatan preparat jaringan tulang alveolar dilakukan dengan tahapan sebagai berikut ini (Ross, 1985:2-3; Sobota dan Hamersen, 1993:2).

a. Deparafinisasi dengan menggunakan *xylol*.

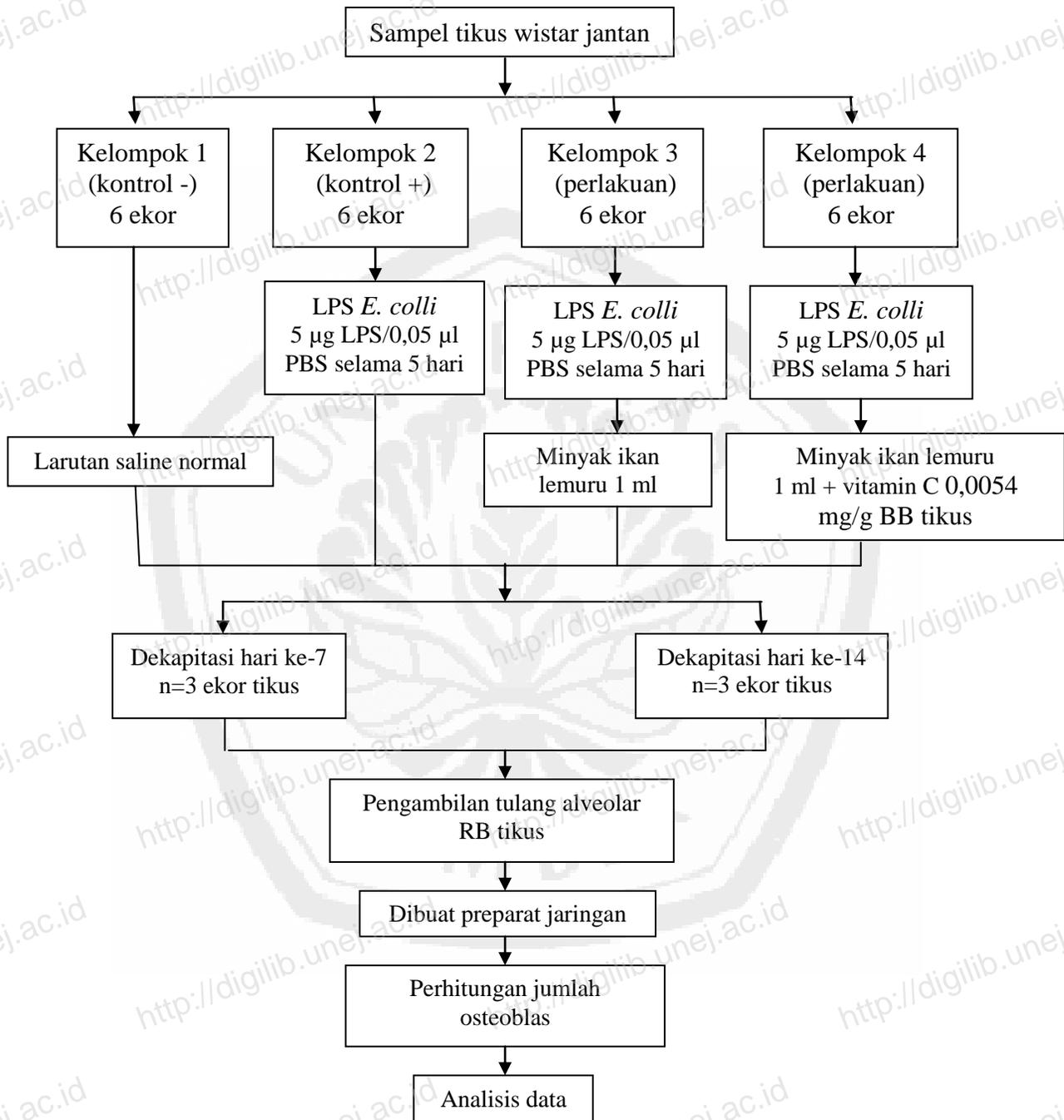
b. Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 3 menit lalu ulangi dengan memasukkan kembali ke dalam *xylol* dalam wadah yang berbeda selama 3 menit.

- c. Dilakukan rehidrasi dengan larutan alkohol 100% dan 95%, masing-masing 6 menit.
- d. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran hambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan alkohol.
- e. Preparat diwarnai dengan zat warna *Mayer's Haematoxylin* selama 15 menit.
- f. Dibilas kembali di air hangat selama 20 menit.
- g. Preparat direndam *eosin* selama 15 detik sampai 2 menit.
- h. Dilakukan dehidrasi kembali dengan larutan alkohol konsentrasi meningkat, 95%, dan 100% masing-masing 3 menit sebanyak 2 kali dengan wadah yang berbeda.
- i. Setelah melalui alkohol absolut preparat dipindahkan ke *xylol* selama 3 menit sebanyak 3 kali dalam wadah yang berbeda dan
- j. Dilakukan *mounting* dengan memberi setetes medium saji yang mempunyai indeks refraksi hampir sama dengan indeks refraksi kaca, misalnya *entellan* pada sediaan hapus. Kemudian sediaan itu ditutup dengan kaca penutup dan dibiarkan mengering.

#### 3.9.6 Tahap Perhitungan Jumlah Sel Osteoblas

Jumlah sel osteoblas dihitung menggunakan mikroskop binokuler dari preparat yang telah dibuat. Setiap preparat terdiri dari 3 sediaan. Sebelumnya diletakkan satu tetes minyak emersi pada preparat yang akan diamati karena perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 X. Dan diamati oleh 3 observer agar mendapatkan hasil yang akurat. Tiap preparat dibaca dengan 6 lapang pandang. Tiap preparat secara sistematis dihitung mulai dari pojok kiri bawah kemudian digeser ke kanan dan di tarik ke bawah demikian seterusnya hingga ujung kanan jaringan tulang alveolar sehingga semua lapang pandang terbaca, dilanjutkan pada potongan kedua dan ketiga. Jumlah osteoblas tiap sampel ditentukan dengan menghitung jumlah rata-rata sel osteoblas dari tiga potongan jaringan tiap preparat.

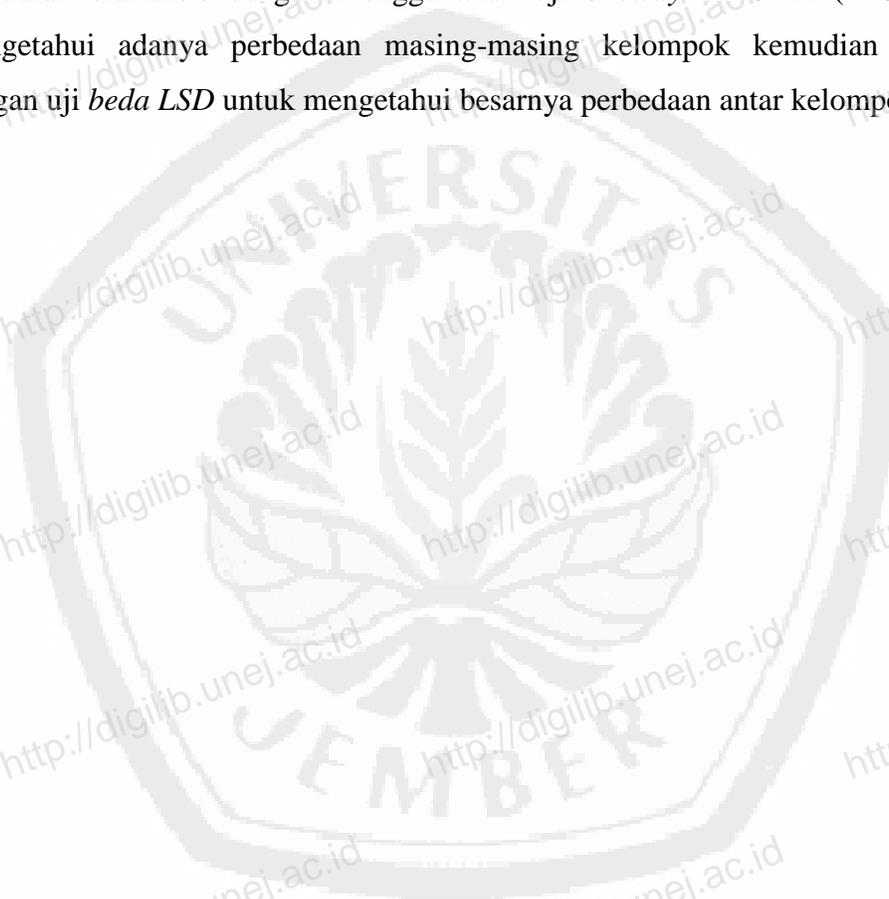
### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.10 Skema Alur Penelitian Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dan vitamin C terhadap Jumlah Osteoblas Tikus Wistar Jantan dengan Periodontitis Eksperimental

### 3.11 Analisis Data

Sebelum data hasil penelitian dianalisis, data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Jika kemudian didapatkan data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji homogenitas varian untuk menguji variasi populasi dengan menggunakan uji *Levene*. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *oneway ANOVA* ( $P < 0,05$ ), untuk mengetahui adanya perbedaan masing-masing kelompok kemudian dilanjutkan dengan uji *beda LSD* untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok.



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

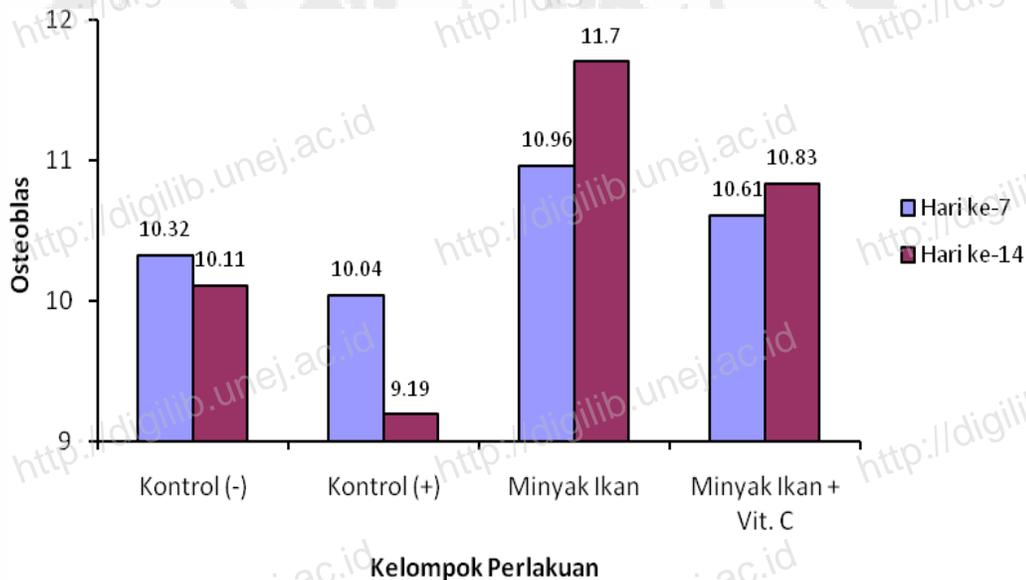
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari–April 2012 dengan jumlah sampel 30 ekor tikus wistar jantan menjadi 4 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan. Kelompok 1 diberi saline normal (kontrol -) secara peroral menggunakan sonde lambung, kelompok 2 diinduksi LPS *E. colli* (kontrol +), kelompok 3 diinduksi LPS *E. colli* kemudian diberi minyak ikan lemuru secara peroral menggunakan sonde lambung, kelompok 4 diinduksi LPS *E. colli* kemudian diberi minyak ikan lemuru dan vitamin c secara peroral menggunakan sonde lambung, dari tiap kelompok yang terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok dengan hari dekapitasi yang berbeda yaitu pada hari ke-7 dan ke-14. Kemudian dilakukan pembuatan preparat jaringan selanjutnya dilakukan pengecatan *Haematoxilin Eosin* dan diamati menggunakan mikroskop binokuler.

Berdasarkan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop binokuler pembesaran 1000x yang dilakukan di Laboratorium fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, didapatkan jumlah rata-rata osteoblas pada tulang alveolar regio molar rahang bawah kanan tikus wistar jantan yang telah diinduksi LPS *E. colli* selama 5 hari dan diberi perlakuan yang terlihat pada gambar tabel 4.1 dan grafik 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Jumlah osteoblas pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

| No. | Kelompok   | Mean $\pm$ SD    |                   |
|-----|--|------------------|-------------------|
|     |  | Hari ke-7        | Hari ke-14        |
| 1.  | Pemberian saline normal (kontrol - )                               | 10,32 $\pm$ 0,51 | 10,111 $\pm$ 0,15 |
| 2.  | Diinduksi LPS <i>E. coli</i> (kontrol + )                          | 10,04 $\pm$ 0,48 | 9,185 $\pm$ 0,32  |
| 3.  | Diinduksi LPS <i>E. coli</i> & pemberian minyak ikan lemuru        | 10,96 $\pm$ 0,66 | 11,704 $\pm$ 0,34 |
| 4.  | Diinduksi LPS <i>E. coli</i> & pemberian minyak ikan dan vitamin c | 10,61 $\pm$ 0,10 | 10,833 $\pm$ 0,10 |

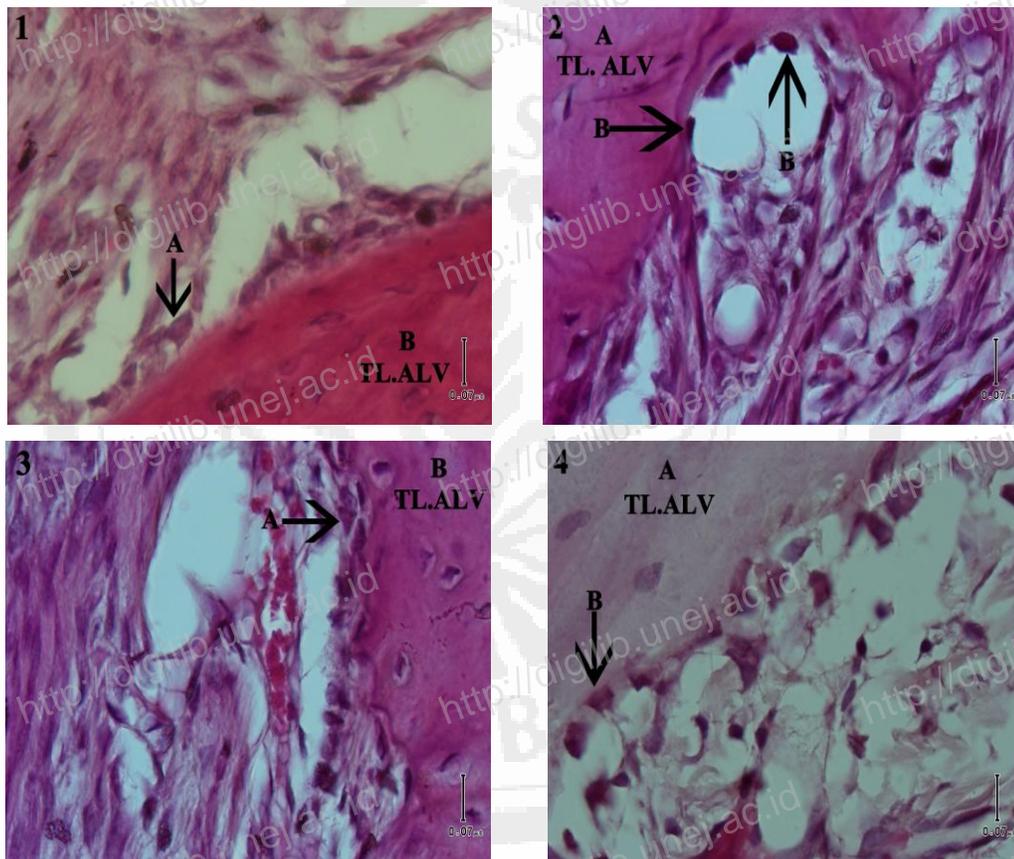
Keterangan :  
SD = standar deviasi



Gambar 4.2 Grafik rata-rata jumlah osteoblas pada kelompok kontrol dan kelompok Perlakuan hari ke-7 dan hari ke-14

Pada gambar grafik 4.2 menunjukkan bahwa jumlah rata-rata osteoblas pada kelompok perlakuan hari ke-7 dan hari ke-14 jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan jumlah rata-rata osteoblas pada kelompok kontrol hari ke-7 lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke-14.

Jumlah rata-rata osteoblas kelompok perlakuan pemberian minyak ikan lemuru pada hari ke-14 lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin c serta kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol (+) hari ke-14 terlihat jumlah rata-rata osteoblas paling sedikit dibandingkan kelompok kontrol (+) hari ke-7, kelompok kontrol (-) dan kelompok perlakuan yang lainnya pada hari ke-7 dan hari ke-14.



Gambar 4.2 Osteoblas pada tulang alveolar pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-7 dengan perbesaran 1000x dengan pewarnaan HE

**Keterangan:**

A : tulang alveolar

B : osteoblas

1 : osteoblas pada kelompok kontrol (-) hari ke-7

2 : osteoblas pada kelompok kontrol (+) hari ke-7

3 : osteoblas pada kelompok perlakuan minyak ikan lemuru hari ke-7

4 : osteoblas pada kelompok perlakuan minyak ikan lemuru & vitamin c hari ke-7

## 4.2 Analisis Data

Data hasil penelitian terlebih dahulu diuji menggunakan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *Komolgorov-Smirnov* dan didapatkan hasil nilai  $P > 0,05$ , ini berarti data yang diperoleh terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas variasi didapatkan hasil yang signifikan yakni  $0,071$  ( $P > 0,05$ ). Jadi, dapat disimpulkan bahwa ragam dari semua kelompok adalah homogen.

Kemudian uji statistik yang dilakukan adalah uji parametrik yakni dengan uji *oneway* ANOVA dengan kemaknaan  $P = 0,05$ . Berdasarkan hasil *oneway* ANOVA diperoleh  $P = 0,000$  ( $P < 0,05$ ) dalam hal ini terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap jumlah osteoblas. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan pada masing-masing variabel maka dilanjutkan dengan uji beda LSD.

Tabel 4.2 Hasil uji homogenitas data menggunakan uji *Levene* dan didapatkan hasil nilai  $P > 0,05$

| Levene statistic | df1 | df2 | sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.386            | 7   | 16  | .071 |

Keterangan:

df1: jumlah kelompok dikurangi 1

df2: jumlah kelompok dikali 3, kemudian hasil dikurangi dengan df1

Tabel 4.3 Hasil uji *oneway* Anova

|                | Sum of squares | df | mean square | F      | sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between groups | 11.724         | 7  | 1.675       | 11.375 | .000 |
| Within groups  | 2.356          | 16 | .147        |        |      |
| Total          | 14.080         | 23 |             |        |      |

Keterangan:

df : jumlah kelompok dikurangi 1

F : anova, rata-rata dari mean square

Sig. : signifikan

Tabel 4.4 Ringkasan signifikansi uji beda LSD terhadap rerata jumlah osteoblas hari ke-7 dan hari ke-14

| Kelompok    | K (-) 7 | K (+) 7 | MI 7   | MI+vit.c 7 | K (-) 14 | K (+) 14 | MI 14  | MI+vit.c 14 |
|-------------|---------|---------|--------|------------|----------|----------|--------|-------------|
| K (-) 7     | -       | 0,388   | 0,358  | 0,055      | 0,525    | *0,002   | 0,117  | *0,000      |
| K (+) 7     | 0,388   | -       | 0,086  | *0,009     | 0,816    | *0,015   | *0,022 | *0,000      |
| MI 7        | 0,358   | 0,086   | -      | 0,278      | 0,130    | *0,000   | 0,488  | *0,003      |
| MI+vit.c 7  | 0,055   | *0,009  | 0,278  | -          | *0,015   | *0,000   | 0,685  | *0,031      |
| K (-) 14    | 0,525   | 0,816   | 0,130  | *0,015     | -        | *0,009   | *0,035 | *0,000      |
| K (+) 14    | *0,002  | *0,015  | *0,000 | *0,000     | *0,009   | -        | *0,000 | *0,000      |
| MI 14       | 0,117   | *0,022  | 0,488  | 0,685      | *0,035   | *0,000   | -      | *0,013      |
| MI+vit.c 14 | *0,000  | *0,000  | *0,003 | *0,031     | *0,000   | *0,000   | *0,013 | -           |

Keterangan: \*=beda signifikansi ( $p < 0,05$ )

Dari uji LSD menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok (kontrol H-7 dan perlakuan minyak ikan lemuru+vitamin c H-7; kontrol H-14 dan perlakuan minyak ikan lemuru H-14; kontrol H-14 dan perlakuan minyak ikan lemuru+vitamin c H-14; perlakuan minyak ikan lemuru+vitamin c H-7 dan perlakuan minyak ikan lemuru+vitamin c H-14; perlakuan minyak ikan lemuru H-14 dan perlakuan minyak ikan lemuru+vitamin c H-14).

### 4.3 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) dan antioksidan (vitamin c) terhadap jumlah osteoblas pada tulang alveolar yang telah diinduksi dengan LPS *E. coli*. Periodontitis pada penelitian ini dibuat dengan cara menginduksi lipopolisakarida (LPS) dari bakteri *E.colli* pada tulang alveolar, bagian sulkus gingiva pada distal gigi molar pertama dan mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanan.

Pada kelompok kontrol (-) hari ke-7, yang diberi saline normal dengan menggunakan sonde lambung pada tikus wistar jantan ini menunjukkan jumlah rata-rata osteoblas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (-) hari ke-14. Hal ini dikarenakan keadaan tikus yang tidak sehat. Banyak faktor yang bisa

menyebabkan tikus menjadi tidak sehat yaitu keadaan kandang yang kotor dan sekam padi yang lembab, sehingga menyebabkan sistem imun pada tubuh tikus menurun dan menyebabkan bakteri normal yang terdapat pada rongga mulut tikus menjadi patogen. Tetapi bakteri yang menyerang tulang alveolar antara distal gigi M1 dan mesial M2 berjumlah sedikit, berbeda dengan jumlah bakteri yang dihasilkan oleh LPS *E. coli* pada daerah tersebut. Kemudian keadaan dimana jumlah osteoblas seharusnya normal menjadi menurun karena bakteri normal yang menjadi patogen dalam rongga mulut menjadi faktor terjadinya sintesis sitokin proinflamatori dan prostaglandin yang menyebabkan pembentukan osteoklas dan jumlah osteoblas menurun pada kelompok kontrol (-) hari ke-14.

Hasil penelitian pada kelompok kontrol (tikus wistar yang diinduksi dengan LPS *E. coli*) pada hari ke-7 dan ke-14 menunjukkan jumlah rata-rata osteoblas paling sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan lainnya, hal ini menunjukkan bahwa induksi LPS *E. coli* mengakibatkan stimulasi sel osteoklas. Menurut Stanshenko (2002), LPS merupakan endotoksin dan mengikat reseptor permukaan *Cluster of differentiation-14* (CD14) pada makrofag dan monosit. *Toll-like receptor-4* (TLR4) makrofag maupun monosit yang berikatan dengan bakteri oleh karena adanya CD14 akan menginduksi sekresi sitokin dan mediator inflamasi lain yaitu sitokin proinflamatori seperti IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, serta TNF- $\alpha$  dan eikosanoid yaitu prostaglandin E-2 (PGE<sub>2</sub>). Mediator tersebut memicu terbentuknya osteoklas dari sel stroma/osteoblas melalui ikatan sel ke sel yaitu *Receptor Activator for NF-K B Ligand* (RANKL) dalam osteoblas dengan *Receptor Activator for NF-K B* (RANK) pada progenitor osteoklas. LPS akan menstimulasi peningkatan jumlah RANKL osteoblas yang berfungsi untuk pembentukan osteoklas melalui proses proliferasi preosteoklas kemudian bediferensiasi menjadi osteoklas yang matur, dimana osteoklas disini mempunyai aksi melarutkan mineral tulang. Keadaan ini menimbulkan osteoid tidak termineralisasi, kemudian dihancurkan oleh proteinase yang berasal dari osteoblas dan setelah itu diresorpsi oleh osteoklas. Sedangkan osteoblas mengalami gangguan dalam melakukan differensiasi dan proliferasi untuk

memperbanyak diri (Indahyani, 2008). Mekanisme ini mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan.

Pada kelompok perlakuan minyak ikan lemuru menunjukkan bahwa rata-rata jumlah osteoblas terbesar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian ini sesuai dengan peneliti Indahyani bahwa kandungan omega-3 dalam minyak ikan, terbukti mencegah terjadinya resorpsi tulang alveolar, dengan terjadinya penurunan jumlah dan aktivitas osteoklas. Menurut Permadi (2002), minyak ikan yang kaya akan asam lemak omega-3 rantai panjang *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang terdiri dari *eicosapentaenic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) ini secara progresif dapat menurunkan produksi prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) dan produksi sitokin proinflamatori IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , serta TNF- $\alpha$  (Salari *et al.*, 2008). Adanya penurunan eikosanoid dan sitokin proinflamatori yang merupakan mediator pembentukan osteoklas menyebabkan pembentukan dan aktivitas osteoklas terganggu (Indahyani, 2001). Sedangkan, prekursor sel stroma di sumsum tulang akan distimulasi oleh omega-3 untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi preosteoblas, kemudian berdiferensiasi lagi menjadi osteoblas yang matur. Osteoblas yang matur akan mensekresi osteosid, kolagen tipe 1, faktor pertumbuhan dan alkaline fosfatase pada proses *remodelling* tulang (Baron, 2006).

Pada rata-rata jumlah osteoblas kelompok yang diinduksi LPS *E. coli*, pemberian minyak ikan dan vitamin C lebih sedikit dibandingkan dengan rata-rata jumlah osteoblas kelompok perlakuan LPS *E. coli* dan minyak ikan lemuru. Menurut Harli (1999), omega-3 yang terdapat di dalam minyak ikan ternyata bersifat sangat tidak stabil, karena omega-3 yang terlalu banyak terkandung didalam sel-sel tubuh akan lebih mudah teroksidasi oleh radikal bebas. Untuk mencegah terjadinya radikal bebas didalam tubuh, dibutuhkannya antioksidan yaitu vitamin c. Dari hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa campuran minyak ikan dan vitamin c kurang dapat memicu aktivitas osteoblas. Karena vitamin c merupakan senyawa yang bisa larut pada air, tetapi tidak dapat larut dalam minyak, karena perbedaan massa jenis membuat vitamin c dan minyak ikan tidak dapat bercampur dan adanya perbedaan mekanisme

absorpsi yang terjadi di usus halus antara minyak ikan lemuru dan vitamin c. Jika absorpsi minyak ikan lemuru membutuhkan enzim empedu untuk mengemulsi lemak sedangkan absorpsi vitamin c tidak membutuhkan zat lain dari tubuh (Almatsier, 2010). Hal ini menyebabkan metabolisme di usus halus tidak sempurna sehingga mengakibatkan penyerapan oleh usus halus menjadi kurang baik. Pada kelompok dengan pemberian campuran minyak ikan dan vitamin c kurang dapat memicu aktivitas osteoblas dibandingkan kelompok dengan pemberian minyak ikan lemuru.



## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah pemberian minyak ikan lemuru lebih efektif meningkatkan jumlah osteoblas dalam *remodelling* tulang dibandingkan dengan pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin c sebagai antioksidan pada tikus wistar jantan yang mengalami infeksi periodontal.

### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian minyak ikan dengan jenis ikan varietas lain terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar yang mengalami infeksi periodontal.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh vitamin c terhadap penyembuhan jaringan periodontal pada tikus wistar yang mengalami infeksi periodontal.
3. Pada penelitian selanjutnya diharapkan untuk menjaga kesehatan tikus dengan sering memantau keadaan tikus dan membersihkan kandang tikus.
4. Sebelum melakukan penelitian selanjutnya diharapkan dilakukan uji kandungan EPA dan DHA minyak ikan lemuru terlebih dahulu untuk hasil yang lebih akurat.

## DAFTAR BACAAN

- Akhiajun. 2010. *Apa itu Radikal Bebas dan Antioksidan* [serial online]. <http://akhiajun.wordpress.com>. [24 Maret 2012]
- Almatsier, S. 2010. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka.
- Anonim. 2002. Masalah Jalur Migrasi Musim Ikan di Perairan laut Jawa Timur (Jalur Migrasi Ikan Lemuru di Perairan Selat Bali). *Journal Litbang: Jawa Timur*.
- Atun, S. 2007. *Hubungan Struktur dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Senyawa Resveratrol dan Turunannya*. Tidak Diterbitkan. Laporan Penelitian. Yogyakarta : Fakultas MIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Baron, R. 2006. *Anatomy and Ultrastructure of Bone Histogenesis, Growth and Remodelling* [serial online]. [http://endotext.org/parathyroid\\_1/ch\\_01502.html](http://endotext.org/parathyroid_1/ch_01502.html). [2 April 2012].
- Carr, A. C, Zhu, B. Z, Frei. 2000. Potential Antiatherogenic Mechanism of Ascorbate (Vitamin C) and  $\alpha$ -tokoferol (Vitamin E). *Circul Resp Journal*. Vol. 87: 349-354.
- Din, J. N., Newby, D. E., dan Flapan, A. D. 2004. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease-Fishing for a Natural Treatment. *British Medical Journal*. Vol. 328: 30-35.
- Djais, A. I. 2006. Periodontitis sebagai Faktor Resiko Jantung Koroner Arteriosklerosis. *Journal PDGI*. Vol. 56 (2): 53-59.
- Dorland. 1998. *Dorland Pocket Dictionary*. Diterjemahkan Kumala, P. Etal. Edisi 25. Jakarta : EGC.
- Erna, S. 2002. *Peningkatan Apoptosis dan Ekspresi p 53 pada Sel Asinar Kelenjar Parotis sebagai Dasar Patogenesis Xerostomia pada Terapi Radiasi, Penelitian Eksperimental pada Mencit BALB/Jantan*. Tidak Diterbitkan. Thesis. Surabaya: Universitas Airlangga.

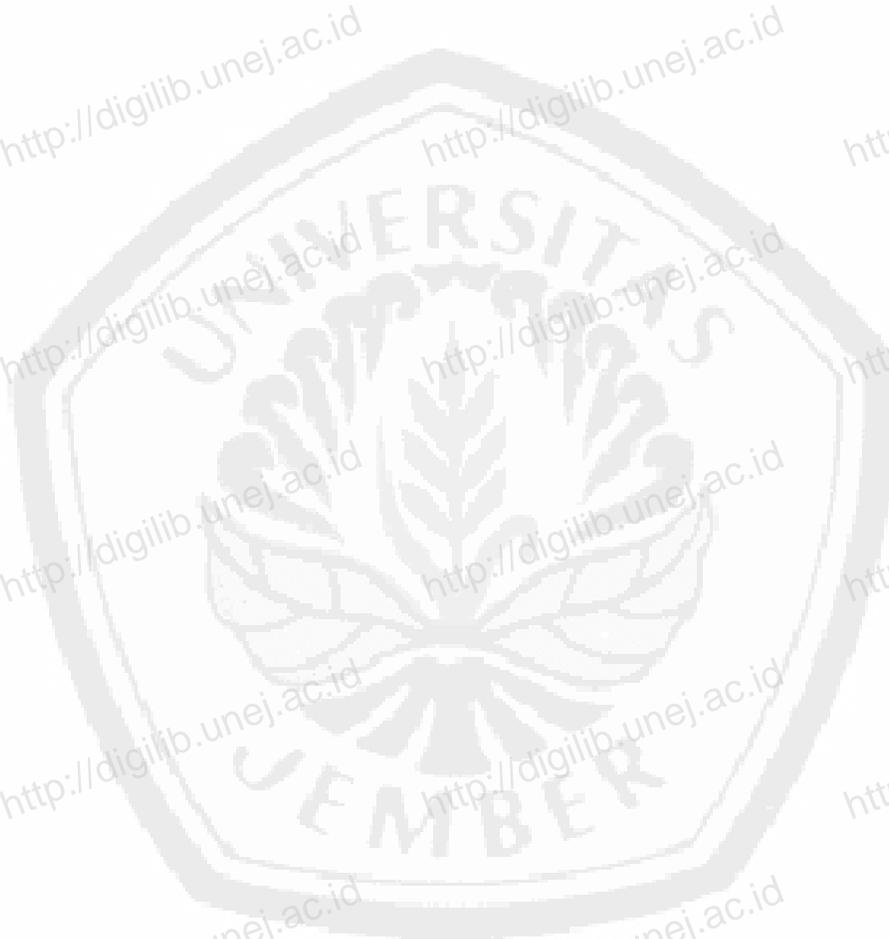
- Fitria, E. 2006. Kadar IL-1 $\beta$  dan IL-8 sebagai Penanda Periodontitis, Faktor Resiko Kelahiran Prematur. *Journal PDGI*. Vol. 56 (2): 60-64.
- Friedman, A. Dan Moe, S. 2006. Review of the Effect of Omega-3 Supplementation in Dialysis Patient. *Clinical Journal Am Soc Nephrol*. Vol 1: 182-192.
- Ganiswarna, S. G., Rianto, S., Frans, D. S., Purwastyastuti, Nafrialdi. 2001. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ganong, W. F. 2003. *Atlas Histologi di Fiore*. Jakarta: EGC.
- Gosh, S. 1971. *Fundamental of Experimental Pharmacology*. Calcutta: Scientific Book Agency.
- Guyton, Arthur C., Hall, John E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Hanafiah, K. A. 2005. *Rancangan Percobaan Aplikatif Edisi 3*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Haniastuti, T. 2003. Peran Prostaglandin E<sub>2</sub> dalam Destruksi Tulang Alveolar pada Penyakit Periodontal. *Journal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. Vol. 10 (2): 16-20.
- Harijanti, Kus. 1996. Peranan Vitamin C dalam Kesehatan Jaringan Lunak Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya*. Vol. 29 (3): 59-62.
- Harli, M. 1999. *Omega-3 Modal untuk Kecerdasan*. [serial online]. <http://www.balita-anda.com/fatherhood/211-omega-3-modal-untuk-kecerdasann.html>. [1 Maret 2011].
- Harmayani, E., Utami, T., Hastuti, P., Jenny. 2000. *Hidrolisis Minyak Ikan Lemuru oleh Lipase Amobil dan Mucor Miehei pada Berbagai Rasio Minyak dan Air*. Seminar Nasional Industri Pangan. Yogyakarta: Fakultas Teknik Pertanian Universitas Gajah Mada.
- Indahyani, D. E. 2001. Mekanisme Minyak Ikan dalam Menghambat Proses Inflamasi. *Majalah Kedokteran Gigi (Journal of Dentist)*. Vol. 34 (3a): 224-228.

- Indahyani, D. E. 2001. *Pengaruh Minyak Ikan Terhadap Jumlah dan Aktivitas Osteoklas Tulang Periapikal pada Tikus*. Tidak Diterbitkan. Tesis. Yogyakarta : Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada.
- Indahyani, D. E., Santoso, A. L. S., Utoro, T., Soesatyo M. H. 2007. Lypopolysacharide (LPS) introduction during growth and development period of rat's tooth toward the occurrence of enamel hypoplasia. *Dentis Journal (Majalah Kedokteran Gigi) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga*. Vol. 40 (2): 85-88.
- Indahyani, D. E. 2008. *Pengaruh Pemberian Minyak Ikan terhadap Proses Erupsi Gigi dengan Infeksi Tulang Alveolaris pada Tikus yang Diinduksi Liposakarida (LPS) (Kajian pada Ekspresi Bone Sialoprotein, Osteopontin dan Fase Erupsi Gigi)*. Disertasi. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Indirawati. 2002. *Upaya Peningkatan Status Kesehatan Gigi dan Mulut Sesuai Kebutuhan Masyarakat Setempat*. <http://digilib.ekologi.litbang>. [23 November 2007].
- Junquiera, L. Corneiro, J. dan Kelley. 1998. *Basic Histology Edisi 9*. USA: McGraw-Hill Companies.
- Junquiera, L. Corneiro, J. dan Kelley. 2007. *Histologi Dasar*. Jakarta: EGC.
- Katno, S., Pramono. 2007. *Tingkat Manfaat dan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Yogyakarta: Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Kimura, S., Peristiwady, T., dan Suharti, S. R. 2007. *Fishes of Bitung* [serial online]. [http://research.kahaku.go.jp/zoology/fishes\\_of\\_bitung/index/htm](http://research.kahaku.go.jp/zoology/fishes_of_bitung/index/htm). [5 Oktober 2010].
- Kj. 2007. *Omega-3 Modal untuk Kecerdasan* [serial online]. <http://www.balita-anda.com>. [21 September 2010].
- Larsen, H. R. 2005. *Fish Oil: The Essential Nutrients*. [serial online]. <http://www.yourhealthbase.com>. [18 November 2009].
- Lesson, P. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi 5*. Jakarta: EGC.

- Levine, M, K. R., Dhariwal, R. W. Welch, Y. Wang, dan J. B. Park. 1995. Determination of Optimal Vitamin C Requirements in Humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 62 (Suppl) : 1347S-1356S.
- Maheswari, H. 2002. *Pemanfaatan Obat Alami: Potensi dan Prospek Pengembangannya*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Meydani, S. N., Dinarello, C. A. 1993. Influence of Dietary Fatty Acids on Cytokine Production an its Clinical Implications. *Nurt Clin Pract*. Vol. 8: 65-72.
- Mustaqimah, D. 1997. Respon Imun Seluler terhadap Penyakit Periodontium Khususnya pada Juvenil Periodontitis dan Rapidly Progressive Periodontitis. *Journal Kedokteran Gigi Indonesia Edisi Khusus KPPIKG*. Vol. 11 (4): 247-255.
- Mustaqimah, D. 2002. Faktor-faktor Penyebab serta Mekanisme Perusakan Tulang Alveolar oleh Osteoklas. *Journal PDGI Edisi Khusus*. Vol. 52 (8): 57-61.
- Ne, R. F., Witherspoon, D. E., Gutmann, J. L. 1999. *Tooth Resorption*. Quintessence Int. 30: 9-25.
- Newman, M.G, Takei, H. H. dan Caranza, F.A. 2006. *Clinical Periodontology 10<sup>th</sup> Edition*. Tokyo : W.B Saunders Company.
- Notoatmojo, S. 2010. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Rineka Pustaka.
- Oh., R. 2005. *Practical Appiance of Fish Oil [ $\omega$ -3 Fatty acids] in Primary Care*. J am Board Fam Pract. 18: 28-36.
- Permadi, A. 2002. *Stabilitas Emulsi dan Efisien Enkapsulasi Minyak Ikan Lemuru (Sardinella lemuru)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Permadi, A. 2003. *Analisis Pengembangan Pengolahan Mikroenkapsulasi Minyak Ikan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ross, M. H., Reith, E. J. 1985. *Histology: A text and Atlas*. USA: Harper & Row Publisher.
- Salari, P., Rezaie, A., Larijani, B., Abdullahi, M. 2008. A Systemic Review of Impact of n-3 fatty Acis in Bone Helath and Osteoporosis. *Med Sci Monit*. Vol. 14 (3): 37-44.

- Sasmito, B. B. Sumardi, J. A., dan Suparmo. 1996. *Perubahan Asam Lemak Esensial, EPA dan DHA pada Penggeringan Ikan Lemuru (Sardinella longiceps)*. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Scwartz, Z., Goultshin, J., Dean D. D., Byan, B. D. 1997. Mechanisms of Alveolar Bone Destruction in Periodontitis. The Pathogenesis of Periodontitis, Hubert E Schoroeder (eds). *Journal of Periodontology* 2000. Vol. 14: 158-172.
- Seymour, G. J., Savage, N. W., Walsh, L. J. 1995. *Immunology: An Introduction for The Health Sciences*. McGraw-Hill Book Co Australia Pty Limited: Australia.
- Sheldon dan Sommers, M. D. 1995. *Manual for Histologic Technicians*. London: J. A Churchil Ltd.
- Simopoulos, A. P. 200. Symposium: *Role of Poultry Product in Enriching the Human Diet With n-3 Polyunsaturated Fatty Acids*. Poul. Sci. 79: 961-970.
- Stanshenko, P. 2002. *Interrelationship of Dental pulp and Apical Periodontitis*. Dental Pulpa. Inc. Chicago: Quintessence Publishing Co.
- Suhartono, E., Fachir, H., dan Setiawan, B. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin: Pustaka Benua.
- Takada, T. 2004. "Effect of Restraint Stress on The Progression of Experimental Periodontitis in Rats". *Journal of Periodontology*. Vol. 75 (2): 306-315.
- Watkins, B. A., Li, Y., Allen, K. G. D., Hopffmann, W. E., dan Seifert, M. F. 2000. Dietary of (n-6)/(n-3) Polyunsaturated Fatty Acids Alters The Fatty Acid Composition of Bone Compartments and Biomarkers of Bone Formation in Rats. *Journal of Nutrition*. Vol. 130: 2274-2284.
- Wang, W. 1998. *Tuna Oil Degumming and Analysis of Polar Lipids by Capillary Electrophoresis (thesis)*. Daltech: Dalhousie University-Canada.
- Weiss, J. T. 1983. *Foods Oils and Their Uses*. Wesport Connecticut: The AVI Publishing Co.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas potensi dan Aplikasi dalam Kesehatann*. Yogyakarta: Kanisius.

Zakaria, F.R. 1996. Peranan Zat-zat Gizi dalam Sistem Kekebalan Tubuh. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 7 (3): 75-81



## Lampiran A. Surat Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎ (0331) 333536, Faks. 331991

Nomor : 1365 /UN.25.1.8/PL.5/2012  
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.  
Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember  
c.q. PJMK. HISTOLOGI FKG Universitas Jember  
di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

- |                            |   |
|----------------------------|---|
| 1. Nama                    | : Verieska Harit Devayanti  |
| 2. NIM                     | : 081610101063  |
| 3. Tahun Akademik          | : 2011/2012   |
| 4. Fakultas                | : Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5. Alamat                  | : Jl. Danau Toba Gg. 7 No. 223 Jember   |
| 6. Judul Penelitian        | : Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru ( <i>Sardinella longiceps</i> ) Dan Antioksidan terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Infeksi Periodontitis |
| 7. Lokasi Penelitian       | : Lab.Histologi FKG UNEJ  |
| 8. Data/alat yang dipinjam | : -   |
| 9. Waktu                   | : Februari 2012 s/d selesai   |
| 10. Tujuan Penelitian      | : Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru ( <i>Sardinella longiceps</i> ) Dan Antioksidan terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Infeksi Periodontitis |
| 11. Dosen Pembimbing       | : 1. Dr. drg. Didin Erna I, M.Kes<br>2. drg. Yenny Yustisia, M.Biotech  |

Demikian atas perkenan dan kerjasamanya yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 28 Mei 2012  
an. Dekan  
Pembantu Dekan I



**Dr. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prost**  
NIP. 196901121996011001

Tembusan Kepada Yth.  
- PJMK Lab Histologi FKG Universitas Jember

## Lampiran B. Perhitungan Rata-Rata Jumlah Osteoblas

### a. Observer 1

| Kode sampel | Sediaan  | Lapang pandang |    |    |    |    |    | jumlah | rata-rata     | total         |
|-------------|----------|----------------|----|----|----|----|----|--------|---------------|---------------|
|             |          | 1              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  |        |               |               |
| <b>A1</b>   | <b>1</b> | 9              | 8  | 11 | 11 | 8  | 10 | 57     | 9.500         |               |
|             | <b>2</b> | 8              | 14 | 12 | 12 | 10 | 11 | 67     | 11.167        |               |
|             | <b>3</b> | 10             | 10 | 12 | 7  | 14 | 7  | 60     | 10.000        |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.222</b> |               |
| <b>A2</b>   | <b>1</b> | 11             | 16 | 13 | 14 | 10 | 12 | 76     | 12.667        | <b>10.963</b> |
|             | <b>2</b> | 10             | 12 | 8  | 14 | 11 | 16 | 71     | 11.833        |               |
|             | <b>3</b> | 8              | 12 | 7  | 8  | 10 | 9  | 54     | 9.000         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>11.167</b> |               |
| <b>A3</b>   | <b>1</b> | 7              | 11 | 13 | 14 | 11 | 13 | 69     | 11.500        |               |
|             | <b>2</b> | 9              | 10 | 15 | 15 | 11 | 14 | 74     | 12.333        |               |
|             | <b>3</b> | 10             | 9  | 7  | 13 | 10 | 15 | 64     | 10.667        |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>11.500</b> |               |
| <b>B1</b>   | <b>1</b> | 7              | 11 | 10 | 9  | 12 | 9  | 58     | 9.667         |               |
|             | <b>2</b> | 10             | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 67     | 11.167        |               |
|             | <b>3</b> | 10             | 9  | 11 | 12 | 10 | 13 | 65     | 10.833        |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.556</b> |               |
| <b>B2</b>   | <b>1</b> | 12             | 9  | 11 | 12 | 12 | 11 | 67     | 11.167        | <b>10.611</b> |
|             | <b>2</b> | 11             | 12 | 11 | 12 | 11 | 10 | 67     | 11.167        |               |
|             | <b>3</b> | 8              | 11 | 11 | 9  | 9  | 11 | 59     | 9.833         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.722</b> |               |
| <b>B3</b>   | <b>1</b> | 11             | 10 | 10 | 13 | 10 | 13 | 67     | 11.167        |               |
|             | <b>2</b> | 8              | 11 | 14 | 10 | 9  | 8  | 60     | 10.000        |               |
|             | <b>3</b> | 12             | 12 | 10 | 10 | 10 | 9  | 63     | 10.500        |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.556</b> |               |
| <b>C1</b>   | <b>1</b> | 10             | 9  | 9  | 13 | 10 | 11 | 62     | 10.333        |               |
|             | <b>2</b> | 9              | 10 | 10 | 8  | 12 | 13 | 62     | 10.333        |               |
|             | <b>3</b> | 13             | 9  | 11 | 10 | 10 | 13 | 66     | 11.000        |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.556</b> |               |
| <b>C2</b>   | <b>1</b> | 11             | 10 | 7  | 12 | 10 | 11 | 61     | 10.167        | <b>10.037</b> |
|             | <b>2</b> | 10             | 8  | 13 | 6  | 12 | 9  | 58     | 9.667         |               |
|             | <b>3</b> | 11             | 9  | 8  | 7  | 10 | 9  | 54     | 9.000         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>9.611</b>  |               |
| <b>C3</b>   | <b>1</b> | 12             | 14 | 12 | 11 | 11 | 8  | 68     | 11.333        |               |
|             | <b>2</b> | 9              | 7  | 7  | 10 | 9  | 7  | 49     | 8.167         |               |

|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    |        |        |
|-----------|--|---|----|----|----|----|----|----|----|--------|--------|
|           |  | 3 | 11 | 12 | 10 | 10 | 10 | 9  | 62 | 10.333 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 9.944  |        |
| <b>D1</b> |  | 1 | 11 | 12 | 13 | 10 | 8  | 9  | 63 | 10.500 |        |
|           |  | 2 | 10 | 12 | 12 | 9  | 9  | 13 | 65 | 10.833 |        |
|           |  | 3 | 13 | 12 | 11 | 9  | 11 | 10 | 66 | 11.000 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.778 |        |
| <b>D2</b> |  | 1 | 13 | 10 | 9  | 11 | 9  | 10 | 62 | 10.333 | 10.315 |
|           |  | 2 | 12 | 12 | 13 | 11 | 9  | 9  | 66 | 11.000 |        |
|           |  | 3 | 8  | 9  | 10 | 11 | 11 | 10 | 59 | 9.833  |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.389 |        |
| <b>D3</b> |  | 1 | 12 | 7  | 8  | 12 | 10 | 7  | 56 | 9.333  |        |
|           |  | 2 | 7  | 11 | 9  | 9  | 11 | 13 | 60 | 10.000 |        |
|           |  | 3 | 11 | 9  | 10 | 11 | 11 | 8  | 60 | 10.000 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 9.778  |        |
| <b>E1</b> |  | 1 | 11 | 12 | 12 | 13 | 16 | 10 | 74 | 12.333 |        |
|           |  | 2 | 15 | 9  | 12 | 9  | 7  | 11 | 63 | 10.500 |        |
|           |  | 3 | 10 | 10 | 12 | 9  | 15 | 11 | 67 | 11.167 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 11.333 |        |
| <b>E2</b> |  | 1 | 14 | 16 | 12 | 10 | 14 | 12 | 78 | 13.000 | 11.704 |
|           |  | 2 | 11 | 10 | 13 | 10 | 13 | 11 | 68 | 11.333 |        |
|           |  | 3 | 12 | 10 | 13 | 13 | 10 | 12 | 70 | 11.667 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 12.000 |        |
| <b>E3</b> |  | 1 | 15 | 10 | 10 | 17 | 15 | 14 | 81 | 13.500 |        |
|           |  | 2 | 11 | 11 | 11 | 10 | 11 | 10 | 64 | 10.667 |        |
|           |  | 3 | 11 | 10 | 11 | 10 | 13 | 12 | 67 | 11.167 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 11.778 |        |
| <b>F1</b> |  | 1 | 10 | 11 | 10 | 10 | 9  | 11 | 61 | 10.167 |        |
|           |  | 2 | 10 | 13 | 14 | 13 | 12 | 11 | 73 | 12.167 |        |
|           |  | 3 | 13 | 8  | 11 | 9  | 11 | 11 | 63 | 10.500 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.944 |        |
| <b>F2</b> |  | 1 | 11 | 13 | 11 | 11 | 12 | 10 | 68 | 11.333 | 10.833 |
|           |  | 2 | 9  | 13 | 11 | 10 | 11 | 10 | 64 | 10.667 |        |
|           |  | 3 | 11 | 10 | 11 | 10 | 11 | 9  | 62 | 10.333 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.778 |        |
| <b>F3</b> |  | 1 | 11 | 11 | 12 | 11 | 11 | 9  | 65 | 10.833 |        |
|           |  | 2 | 10 | 11 | 11 | 12 | 10 | 12 | 66 | 11.000 |        |
|           |  | 3 | 12 | 10 | 10 | 9  | 12 | 10 | 63 | 10.500 |        |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.778 |        |
| <b>G1</b> |  | 1 | 6  | 10 | 10 | 10 | 8  | 11 | 55 | 9.167  |        |
|           |  | 2 | 10 | 11 | 9  | 8  | 11 | 10 | 59 | 9.833  |        |
|           |  | 3 | 7  | 9  | 11 | 8  | 10 | 11 | 56 | 9.333  |        |

|           |          |    |    |    |    |    |    |    |               |               |  |
|-----------|----------|----|----|----|----|----|----|----|---------------|---------------|--|
|           |          |    |    |    |    |    |    |    |               | <b>9.444</b>  |  |
| <b>G2</b> | <b>1</b> | 6  | 11 | 9  | 7  | 10 | 11 | 54 | 9.000         | <b>9.185</b>  |  |
|           | <b>2</b> | 8  | 11 | 9  | 10 | 8  | 11 | 57 | 9.500         |               |  |
|           | <b>3</b> | 11 | 7  | 9  | 10 | 9  | 10 | 56 | 9.333         |               |  |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.278</b>  |               |  |
| <b>G3</b> | <b>1</b> | 7  | 9  | 11 | 9  | 9  | 8  | 53 | 8.833         |               |  |
|           | <b>2</b> | 9  | 7  | 11 | 8  | 7  | 8  | 50 | 8.333         |               |  |
|           | <b>3</b> | 8  | 9  | 8  | 9  | 13 | 9  | 56 | 9.333         |               |  |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>8.833</b>  |               |  |
| <b>H1</b> | <b>1</b> | 10 | 10 | 10 | 12 | 11 | 8  | 61 | 10.167        |               |  |
|           | <b>2</b> | 10 | 12 | 11 | 9  | 10 | 10 | 62 | 10.333        |               |  |
|           | <b>3</b> | 8  | 9  | 8  | 9  | 13 | 9  | 56 | 9.333         |               |  |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.944</b>  |               |  |
| <b>H2</b> | <b>1</b> | 13 | 12 | 10 | 8  | 11 | 9  | 63 | 10.500        | <b>10.111</b> |  |
|           | <b>2</b> | 10 | 13 | 12 | 9  | 9  | 8  | 61 | 10.167        |               |  |
|           | <b>3</b> | 9  | 11 | 9  | 10 | 9  | 12 | 60 | 10.000        |               |  |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.222</b> |               |  |
| <b>H3</b> | <b>1</b> | 8  | 10 | 11 | 9  | 7  | 8  | 53 | 8.833         |               |  |
|           | <b>2</b> | 9  | 11 | 10 | 9  | 11 | 13 | 63 | 10.500        |               |  |
|           | <b>3</b> | 12 | 8  | 7  | 15 | 9  | 16 | 67 | 11.167        |               |  |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.167</b> |               |  |

Penanggung jawab  
Laboratorium Histologi

Pembaca  
Observer 1

drg. Happy Harmono, M. Kes.  
NIP 196 709 011 997 021 001

Sri Wahyuningsih, A. Md.  
NIP 197 601 211 999 030 2009

## b. Observer 2

| Kode sampel | Sediaan | Lapang pandang |    |    |    |    |    | jumlah | rata-rata | total  |
|-------------|---------|----------------|----|----|----|----|----|--------|-----------|--------|
|             |         | 1              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  |        |           |        |
| A1          | 1       | 9              | 8  | 11 | 11 | 8  | 10 | 57     | 9.50      |        |
|             | 2       | 8              | 14 | 12 | 12 | 10 | 11 | 67     | 11.17     |        |
|             | 3       | 10             | 10 | 12 | 7  | 14 | 7  | 60     | 10.00     |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 10.222    |        |
| A2          | 1       | 11             | 16 | 13 | 14 | 10 | 12 | 76     | 12.67     | 10.963 |
|             | 2       | 12             | 10 | 10 | 12 | 12 | 15 | 71     | 11.83     |        |
|             | 3       | 9              | 11 | 8  | 7  | 10 | 9  | 54     | 9.00      |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 11.167    |        |
| A3          | 1       | 9              | 10 | 12 | 14 | 13 | 11 | 69     | 11.50     |        |
|             | 2       | 9              | 10 | 15 | 15 | 11 | 14 | 74     | 12.33     |        |
|             | 3       | 11             | 8  | 8  | 12 | 11 | 14 | 64     | 10.67     |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 11.500    |        |
| B1          | 1       | 7              | 10 | 11 | 10 | 11 | 9  | 58     | 9.67      |        |
|             | 2       | 11             | 10 | 11 | 12 | 11 | 12 | 67     | 11.17     |        |
|             | 3       | 10             | 9  | 11 | 12 | 10 | 13 | 65     | 10.83     |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 10.556    |        |
| B2          | 1       | 12             | 9  | 11 | 12 | 12 | 11 | 67     | 11.17     | 10.611 |
|             | 2       | 10             | 13 | 12 | 11 | 9  | 12 | 67     | 11.17     |        |
|             | 3       | 9              | 10 | 9  | 11 | 8  | 12 | 59     | 9.83      |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 10.722    |        |
| B3          | 1       | 10             | 11 | 9  | 14 | 13 | 10 | 67     | 11.17     |        |
|             | 2       | 8              | 11 | 14 | 10 | 9  | 8  | 60     | 10.00     |        |
|             | 3       | 11             | 13 | 9  | 9  | 12 | 9  | 63     | 10.50     |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 10.556    |        |
| C1          | 1       | 10             | 9  | 9  | 13 | 10 | 11 | 62     | 10.333    |        |
|             | 2       | 9              | 10 | 10 | 8  | 12 | 13 | 62     | 10.333    |        |
|             | 3       | 13             | 9  | 11 | 10 | 10 | 13 | 66     | 11.000    |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 10.556    |        |
| C2          | 1       | 11             | 10 | 7  | 12 | 10 | 11 | 61     | 10.17     | 10.037 |
|             | 2       | 9              | 10 | 11 | 8  | 12 | 8  | 58     | 9.67      |        |
|             | 3       | 9              | 11 | 9  | 8  | 10 | 7  | 54     | 9.00      |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 9.611     |        |
| C3          | 1       | 12             | 14 | 11 | 12 | 10 | 9  | 68     | 11.33     |        |
|             | 2       | 9              | 7  | 7  | 10 | 9  | 7  | 49     | 8.17      |        |
|             | 3       | 12             | 11 | 9  | 11 | 8  | 11 | 62     | 10.33     |        |
|             |         |                |    |    |    |    |    |        | 9.944     |        |

|           |          |    |    |    |    |    |    |    |               |               |
|-----------|----------|----|----|----|----|----|----|----|---------------|---------------|
| <b>D1</b> | <b>1</b> | 12 | 11 | 11 | 10 | 8  | 11 | 63 | 10.50         |               |
|           | <b>2</b> | 10 | 12 | 12 | 9  | 9  | 13 | 65 | 10.83         |               |
|           | <b>3</b> | 10 | 11 | 12 | 9  | 11 | 13 | 66 | 11.00         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.778</b> |               |
| <b>D2</b> | <b>1</b> | 12 | 10 | 8  | 11 | 10 | 11 | 62 | 10.33         | <b>10.315</b> |
|           | <b>2</b> | 10 | 14 | 11 | 13 | 8  | 10 | 66 | 11.00         |               |
|           | <b>3</b> | 8  | 9  | 10 | 11 | 11 | 10 | 59 | 9.83          |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.389</b> |               |
| <b>D3</b> | <b>1</b> | 12 | 7  | 8  | 12 | 10 | 7  | 56 | 9.33          |               |
|           | <b>2</b> | 8  | 10 | 9  | 9  | 12 | 12 | 60 | 10.00         |               |
|           | <b>3</b> | 9  | 11 | 9  | 12 | 8  | 11 | 60 | 10.00         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.778</b>  |               |
| <b>E1</b> | <b>1</b> | 11 | 12 | 12 | 13 | 16 | 10 | 74 | 12.333        |               |
|           | <b>2</b> | 15 | 9  | 12 | 9  | 7  | 11 | 63 | 10.500        |               |
|           | <b>3</b> | 10 | 10 | 12 | 9  | 15 | 11 | 67 | 11.167        |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>11.333</b> |               |
| <b>E2</b> | <b>1</b> | 14 | 15 | 12 | 12 | 13 | 12 | 78 | 13.00         | <b>11.704</b> |
|           | <b>2</b> | 11 | 11 | 12 | 10 | 13 | 11 | 68 | 11.33         |               |
|           | <b>3</b> | 13 | 10 | 13 | 12 | 10 | 12 | 70 | 11.67         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>12.00</b>  |               |
| <b>E3</b> | <b>1</b> | 15 | 11 | 11 | 16 | 14 | 14 | 81 | 13.50         |               |
|           | <b>2</b> | 11 | 11 | 11 | 10 | 11 | 10 | 64 | 10.67         |               |
|           | <b>3</b> | 12 | 10 | 10 | 11 | 12 | 12 | 67 | 11.17         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>11.778</b> |               |
| <b>F1</b> | <b>1</b> | 11 | 11 | 9  | 9  | 10 | 11 | 61 | 10.17         |               |
|           | <b>2</b> | 11 | 12 | 12 | 13 | 13 | 12 | 73 | 12.17         |               |
|           | <b>3</b> | 11 | 8  | 13 | 9  | 11 | 11 | 63 | 10.50         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.944</b> |               |
| <b>F2</b> | <b>1</b> | 10 | 13 | 11 | 11 | 12 | 11 | 68 | 11.33         | <b>10.833</b> |
|           | <b>2</b> | 10 | 13 | 11 | 11 | 9  | 10 | 64 | 10.67         |               |
|           | <b>3</b> | 11 | 11 | 10 | 10 | 11 | 9  | 62 | 10.33         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.778</b> |               |
| <b>F3</b> | <b>1</b> | 9  | 10 | 12 | 11 | 11 | 12 | 65 | 10.83         |               |
|           | <b>2</b> | 10 | 11 | 11 | 12 | 10 | 12 | 66 | 11.00         |               |
|           | <b>3</b> | 12 | 10 | 9  | 10 | 11 | 11 | 63 | 10.50         |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.778</b> |               |
| <b>G1</b> | <b>1</b> | 8  | 10 | 10 | 9  | 8  | 10 | 55 | 9.17          |               |
|           | <b>2</b> | 10 | 11 | 9  | 8  | 11 | 10 | 59 | 9.83          |               |
|           | <b>3</b> | 8  | 10 | 11 | 8  | 9  | 10 | 56 | 9.33          |               |
|           |          |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.444</b>  |               |
| <b>G2</b> | <b>1</b> | 8  | 11 | 9  | 7  | 9  | 10 | 54 | 9.00          | <b>9.204</b>  |

|           |   |    |    |    |    |    |    |    |               |               |
|-----------|---|----|----|----|----|----|----|----|---------------|---------------|
|           | 2 | 9  | 11 | 8  | 10 | 8  | 11 | 57 | 9.50          |               |
|           | 3 | 10 | 8  | 9  | 10 | 9  | 10 | 56 | 9.33          |               |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.278</b>  |               |
| <b>G3</b> | 1 | 8  | 9  | 11 | 10 | 8  | 8  | 54 | 9.00          |               |
|           | 2 | 7  | 8  | 11 | 8  | 9  | 7  | 50 | 8.33          |               |
|           | 3 | 9  | 10 | 8  | 9  | 11 | 9  | 56 | 9.33          |               |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>8.889</b>  |               |
| <b>H1</b> | 1 | 10 | 10 | 10 | 12 | 11 | 8  | 61 | 10.17         |               |
|           | 2 | 10 | 12 | 11 | 10 | 10 | 9  | 62 | 10.33         |               |
|           | 3 | 10 | 9  | 8  | 9  | 11 | 9  | 56 | 9.33          |               |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.944</b>  |               |
| <b>H2</b> | 1 | 11 | 13 | 9  | 10 | 11 | 9  | 63 | 10.50         | <b>10.111</b> |
|           | 2 | 12 | 13 | 10 | 9  | 8  | 9  | 61 | 10.17         |               |
|           | 3 | 9  | 11 | 9  | 9  | 10 | 12 | 60 | 10.00         |               |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.222</b> |               |
| <b>H3</b> | 1 | 9  | 10 | 10 | 8  | 9  | 7  | 53 | 8.83          |               |
|           | 2 | 10 | 11 | 9  | 13 | 11 | 9  | 63 | 10.50         |               |
|           | 3 | 12 | 8  | 9  | 15 | 9  | 14 | 67 | 11.17         |               |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.167</b> |               |

Penanggung jawab  
Laboratorium Histologi

Pembaca  
Observer 2

drg. Happy Harmono, M. Kes.  
NIP 196 709 011 997 021 001

Nur Aini Hardyanti, A. Md, SP.  
NIP 197 308 271 999 030 2003

## c. Observer 3

| Kode sampel | Sediaan  | Lapang pandang |    |    |    |    |    | jumlah | rata-rata     | total         |
|-------------|----------|----------------|----|----|----|----|----|--------|---------------|---------------|
|             |          | 1              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  |        |               |               |
| <b>A1</b>   | <b>1</b> | 9              | 8  | 11 | 11 | 8  | 10 | 57     | 9.50          |               |
|             | <b>2</b> | 14             | 9  | 11 | 12 | 9  | 12 | 67     | 11.17         |               |
|             | <b>3</b> | 9              | 11 | 7  | 12 | 13 | 8  | 60     | 10.00         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.222</b> |               |
| <b>A2</b>   | <b>1</b> | 16             | 11 | 10 | 12 | 14 | 13 | 76     | 12.67         | <b>10.963</b> |
|             | <b>2</b> | 10             | 12 | 8  | 14 | 11 | 16 | 71     | 11.83         |               |
|             | <b>3</b> | 9              | 11 | 8  | 7  | 9  | 10 | 54     | 9.00          |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>11.167</b> |               |
| <b>A3</b>   | <b>1</b> | 7              | 11 | 13 | 14 | 11 | 13 | 69     | 11.50         |               |
|             | <b>2</b> | 11             | 9  | 14 | 15 | 14 | 11 | 74     | 12.33         |               |
|             | <b>3</b> | 9              | 10 | 8  | 12 | 12 | 13 | 64     | 10.67         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>11.500</b> |               |
| <b>B1</b>   | <b>1</b> | 8              | 10 | 12 | 9  | 11 | 8  | 58     | 9.67          |               |
|             | <b>2</b> | 10             | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 67     | 11.17         |               |
|             | <b>3</b> | 9              | 11 | 10 | 13 | 12 | 10 | 65     | 10.83         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.56</b>  |               |
| <b>B2</b>   | <b>1</b> | 9              | 11 | 12 | 11 | 12 | 12 | 67     | 11.17         | <b>10.611</b> |
|             | <b>2</b> | 11             | 12 | 11 | 12 | 11 | 10 | 67     | 11.17         |               |
|             | <b>3</b> | 8              | 11 | 11 | 9  | 9  | 11 | 59     | 9.83          |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.722</b> |               |
| <b>B3</b>   | <b>1</b> | 11             | 10 | 10 | 13 | 10 | 13 | 67     | 11.17         |               |
|             | <b>2</b> | 9              | 10 | 13 | 11 | 8  | 9  | 60     | 10.00         |               |
|             | <b>3</b> | 10             | 13 | 11 | 9  | 10 | 10 | 63     | 10.50         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.556</b> |               |
| <b>C1</b>   | <b>1</b> | 10             | 9  | 9  | 13 | 10 | 11 | 62     | 10.333        |               |
|             | <b>2</b> | 9              | 10 | 10 | 8  | 12 | 13 | 62     | 10.333        |               |
|             | <b>3</b> | 13             | 9  | 11 | 10 | 10 | 13 | 66     | 11.000        |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>10.556</b> |               |
| <b>C2</b>   | <b>1</b> | 10             | 9  | 8  | 11 | 11 | 12 | 61     | 10.17         | <b>10.037</b> |
|             | <b>2</b> | 10             | 8  | 13 | 6  | 12 | 9  | 58     | 9.67          |               |
|             | <b>3</b> | 8              | 12 | 9  | 7  | 10 | 8  | 54     | 9.00          |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>9.611</b>  |               |
| <b>C3</b>   | <b>1</b> | 10             | 12 | 13 | 11 | 12 | 10 | 68     | 11.33         |               |
|             | <b>2</b> | 7              | 9  | 8  | 10 | 8  | 7  | 49     | 8.17          |               |
|             | <b>3</b> | 11             | 12 | 10 | 10 | 10 | 9  | 62     | 10.33         |               |
|             |          |                |    |    |    |    |    |        | <b>9.944</b>  |               |
| <b>D1</b>   | <b>1</b> | 11             | 12 | 13 | 10 | 8  | 9  | 63     | 10.50         |               |

|           |   |    |    |    |    |    |    |    |        |        |
|-----------|---|----|----|----|----|----|----|----|--------|--------|
|           | 2 | 12 | 10 | 9  | 12 | 10 | 12 | 65 | 10.83  |        |
|           | 3 | 12 | 13 | 11 | 8  | 12 | 10 | 66 | 11.00  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.778 |        |
| <b>D2</b> | 1 | 12 | 10 | 10 | 9  | 11 | 10 | 62 | 10.33  | 10.370 |
|           | 2 | 12 | 12 | 13 | 11 | 9  | 9  | 66 | 11.00  |        |
|           | 3 | 10 | 8  | 10 | 11 | 11 | 9  | 59 | 9.83   |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.389 |        |
| <b>D3</b> | 1 | 11 | 8  | 8  | 10 | 11 | 8  | 56 | 9.33   |        |
|           | 2 | 9  | 11 | 10 | 11 | 10 | 12 | 63 | 10.50  |        |
|           | 3 | 11 | 9  | 10 | 11 | 11 | 8  | 60 | 10.00  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 9.944  |        |
| <b>E1</b> | 1 | 11 | 12 | 12 | 13 | 16 | 10 | 74 | 12.333 |        |
|           | 2 | 15 | 9  | 12 | 9  | 7  | 11 | 63 | 10.500 |        |
|           | 3 | 10 | 10 | 12 | 9  | 15 | 11 | 67 | 11.167 |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 11.333 |        |
| <b>E2</b> | 1 | 14 | 15 | 12 | 12 | 13 | 12 | 78 | 13.00  | 11.704 |
|           | 2 | 12 | 10 | 11 | 12 | 13 | 10 | 68 | 11.33  |        |
|           | 3 | 12 | 13 | 13 | 10 | 12 | 10 | 70 | 11.67  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 12.000 |        |
| <b>E3</b> | 1 | 16 | 10 | 12 | 15 | 14 | 14 | 81 | 13.50  |        |
|           | 2 | 11 | 11 | 11 | 10 | 11 | 10 | 64 | 10.67  |        |
|           | 3 | 10 | 12 | 9  | 13 | 11 | 12 | 67 | 11.17  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 11.778 |        |
| <b>F1</b> | 1 | 10 | 9  | 10 | 10 | 11 | 11 | 61 | 10.17  |        |
|           | 2 | 10 | 13 | 12 | 13 | 14 | 11 | 73 | 12.17  |        |
|           | 3 | 12 | 9  | 11 | 11 | 11 | 9  | 63 | 10.50  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.944 |        |
| <b>F2</b> | 1 | 12 | 11 | 11 | 11 | 13 | 10 | 68 | 11.33  | 10.833 |
|           | 2 | 9  | 10 | 11 | 13 | 10 | 11 | 64 | 10.67  |        |
|           | 3 | 9  | 11 | 9  | 11 | 10 | 12 | 62 | 10.33  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.778 |        |
| <b>F3</b> | 1 | 11 | 12 | 11 | 11 | 11 | 9  | 65 | 10.83  |        |
|           | 2 | 11 | 10 | 10 | 12 | 11 | 12 | 66 | 11.00  |        |
|           | 3 | 11 | 9  | 10 | 10 | 12 | 11 | 63 | 10.50  |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 10.778 |        |
| <b>G1</b> | 1 | 10 | 10 | 8  | 9  | 8  | 10 | 55 | 9.17   |        |
|           | 2 | 10 | 10 | 9  | 8  | 11 | 11 | 59 | 9.83   |        |
|           | 3 | 8  | 10 | 11 | 8  | 9  | 10 | 56 | 9.33   |        |
|           |   |    |    |    |    |    |    |    | 9.444  |        |
| <b>G2</b> | 1 | 6  | 9  | 11 | 7  | 11 | 10 | 54 | 9.00   | 9.185  |
|           | 2 | 11 | 11 | 8  | 10 | 9  | 8  | 57 | 9.50   |        |

|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    |               |               |
|-----------|--|---|----|----|----|----|----|----|----|---------------|---------------|
|           |  | 3 | 11 | 10 | 9  | 7  | 10 | 9  | 56 | 9.33          |               |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.278</b>  |               |
| <b>G3</b> |  | 1 | 7  | 9  | 11 | 8  | 9  | 9  | 53 | 8.83          |               |
|           |  | 2 | 9  | 7  | 11 | 8  | 7  | 8  | 50 | 8.33          |               |
|           |  | 3 | 8  | 13 | 8  | 9  | 9  | 9  | 56 | 9.33          |               |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>8.833</b>  |               |
| <b>H1</b> |  | 1 | 10 | 9  | 10 | 12 | 11 | 9  | 61 | 10.17         |               |
|           |  | 2 | 10 | 12 | 11 | 9  | 10 | 10 | 62 | 10.33         |               |
|           |  | 3 | 9  | 13 | 8  | 9  | 9  | 8  | 56 | 9.33          |               |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>9.944</b>  |               |
| <b>H2</b> |  | 1 | 10 | 12 | 13 | 8  | 11 | 9  | 63 | 10.50         | <b>10.111</b> |
|           |  | 2 | 12 | 12 | 11 | 9  | 9  | 8  | 61 | 10.17         |               |
|           |  | 3 | 9  | 11 | 9  | 10 | 12 | 9  | 60 | 10.00         |               |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.222</b> |               |
| <b>H3</b> |  | 1 | 8  | 11 | 10 | 9  | 8  | 7  | 53 | 8.83          |               |
|           |  | 2 | 9  | 11 | 10 | 9  | 11 | 13 | 63 | 10.50         |               |
|           |  | 3 | 15 | 8  | 7  | 13 | 10 | 14 | 67 | 11.17         |               |
|           |  |   |    |    |    |    |    |    |    | <b>10.167</b> |               |

Penanggung jawab  
Laboratorium Histologi

Pembaca  
Observer 3

drg. Happy Harmono, M. Kes.  
NIP 196 709 011 997 021 001

Verieska Harit Devayanti  
NIM 081610101063

### Lampiran C. Analisis data

#### Descriptives

Osteoblas

|           | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-----------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|           |    |        |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
|           |    |        |                |            | I - H7                           | 3           |         |         |
| II - H7   | 3  | 10.611 | .096           | .056       | 10.372                           | 10.850      | 10.556  | 10.722  |
| III - H7  | 3  | 10.037 | .479           | .277       | 8.847                            | 11.227      | 9.611   | 10.556  |
| IV - H7   | 3  | 10.315 | .504           | .291       | 9.063                            | 11.567      | 9.778   | 10.778  |
| I - H14   | 3  | 11.704 | .339           | .196       | 10.860                           | 12.547      | 11.333  | 12.000  |
| II - H14  | 3  | 10.833 | .096           | .056       | 10.594                           | 11.072      | 10.778  | 10.944  |
| III - H14 | 3  | 9.185  | .316           | .182       | 8.400                            | 9.970       | 8.833   | 9.444   |
| IV - H14  | 3  | 10.111 | .147           | .085       | 9.746                            | 10.476      | 9.944   | 10.222  |
| Total     | 24 | 10.470 | .782           | .160       | 10.140                           | 10.800      | 8.833   | 12.000  |

#### a. Uji Normalitas

|                                  |                | MI H7  | MI+VIT CH7 | K(+) H7 | K(-) H7 |
|----------------------------------|----------------|--------|------------|---------|---------|
| N                                |                | 3      | 3          | 3       | 3       |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 10.963 | 10.611     | 10.037  | 10.315  |
|                                  | Std. Deviation | .663   | .096       | .479    | .504    |
| Most Extreme Differences         | Absolute       | .287   | .385       | .243    | .225    |
|                                  | Positive       | .209   | .385       | .243    | .190    |
|                                  | Negative       | -.287  | -.282      | -.194   | -.225   |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | .498   | .667       | .421    | .390    |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .965   | .766       | .994    | .998    |

|                                  |                | MI H14 | MI+VITC H14 | K(+) H14 | K(-) 14 |
|----------------------------------|----------------|--------|-------------|----------|---------|
| N                                |                | 3      | 3           | 3        | 3       |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 11.704 | 10.833      | 9.185    | 10.111  |
|                                  | Std. Deviation | .339   | .096        | .316     | .147    |
| Most Extreme Differences         | Absolute       | .253   | .385        | .282     | .314    |
|                                  | Positive       | .196   | .385        | .206     | .225    |
|                                  | Negative       | -.253  | -.282       | -.282    | -.314   |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | .438   | .667        | .488     | .544    |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .991   | .766        | .971     | .929    |

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

|                                  |                | Osteoblas |
|----------------------------------|----------------|-----------|
| N                                |                | 24        |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 10.470    |
|                                  | Std. Deviation | .782      |
| Most Extreme Differences         | Absolute       | .097      |
|                                  | Positive       | .097      |
|                                  | Negative       | -.085     |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | .475      |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .978      |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### b. Uji Homogenitas

Osteoblas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.386            | 7   | 16  | .071 |

### c. Uji oneway ANOVA

Osteoblas

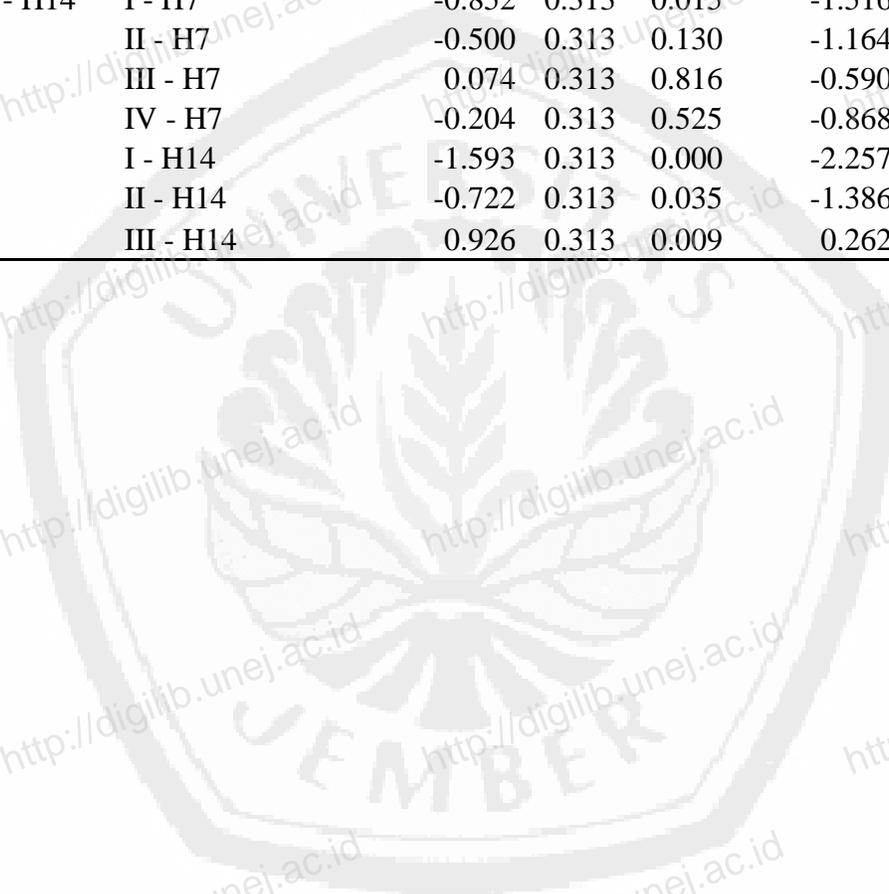
|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 11.724         | 7  | 1.675       | 11.375 | .000 |
| Within Groups  | 2.356          | 16 | .147        |        |      |
| Total          | 14.080         | 23 |             |        |      |

### d. Uji Tukey LSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig.  | 95% Confidence Interval |             |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
|              |              |                       |            |       | Lower Bound             | Upper Bound |
| I - H7       | II - H7      | 0.352                 | 0.313      | 0.278 | -0.312                  | 1.016       |
|              | III - H7     | 0.926                 | 0.313      | 0.009 | 0.262                   | 1.590       |
|              | IV - H7      | 0.648                 | 0.313      | 0.055 | -0.016                  | 1.312       |
|              | I - H14      | -0.741                | 0.313      | 0.031 | -1.405                  | -0.077      |

|          |           |        |       |       |        |        |
|----------|-----------|--------|-------|-------|--------|--------|
|          | II - H14  | 0.130  | 0.313 | 0.685 | -0.535 | 0.794  |
|          | III - H14 | 1.778  | 0.313 | 0.000 | 1.114  | 2.442  |
|          | IV - H14  | 0.852  | 0.313 | 0.015 | 0.188  | 1.516  |
| II - H7  | I - H7    | -0.352 | 0.313 | 0.278 | -1.016 | 0.312  |
|          | III - H7  | 0.574  | 0.313 | 0.086 | -0.090 | 1.238  |
|          | IV - H7   | 0.296  | 0.313 | 0.358 | -0.368 | 0.960  |
|          | I - H14   | -1.093 | 0.313 | 0.003 | -1.757 | -0.428 |
|          | II - H14  | -0.222 | 0.313 | 0.488 | -0.886 | 0.442  |
|          | III - H14 | 1.426  | 0.313 | 0.000 | 0.762  | 2.090  |
|          | IV - H14  | 0.500  | 0.313 | 0.130 | -0.164 | 1.164  |
| III - H7 | I - H7    | -0.926 | 0.313 | 0.009 | -1.590 | -0.262 |
|          | II - H7   | -0.574 | 0.313 | 0.086 | -1.238 | 0.090  |
|          | IV - H7   | -0.278 | 0.313 | 0.388 | -0.942 | 0.386  |
|          | I - H14   | -1.667 | 0.313 | 0.000 | -2.331 | -1.002 |
|          | II - H14  | -0.796 | 0.313 | 0.022 | -1.460 | -0.132 |
|          | III - H14 | 0.852  | 0.313 | 0.015 | 0.188  | 1.516  |
|          | IV - H14  | -0.074 | 0.313 | 0.816 | -0.738 | 0.590  |
| IV - H7  | I - H7    | -0.648 | 0.313 | 0.055 | -1.312 | 0.016  |
|          | II - H7   | -0.296 | 0.313 | 0.358 | -0.960 | 0.368  |
|          | III - H7  | 0.278  | 0.313 | 0.388 | -0.386 | 0.942  |
|          | I - H14   | -1.389 | 0.313 | 0.000 | -2.053 | -0.725 |
|          | II - H14  | -0.519 | 0.313 | 0.117 | -1.183 | 0.146  |
|          | III - H14 | 1.130  | 0.313 | 0.002 | 0.465  | 1.794  |
|          | IV - H14  | 0.204  | 0.313 | 0.525 | -0.460 | 0.868  |
| I - H14  | I - H7    | 0.741  | 0.313 | 0.031 | 0.077  | 1.405  |
|          | II - H7   | 1.093  | 0.313 | 0.003 | 0.428  | 1.757  |
|          | III - H7  | 1.667  | 0.313 | 0.000 | 1.002  | 2.331  |
|          | IV - H7   | 1.389  | 0.313 | 0.000 | 0.725  | 2.053  |
|          | II - H14  | 0.870  | 0.313 | 0.013 | 0.206  | 1.535  |
|          | III - H14 | 2.519  | 0.313 | 0.000 | 1.854  | 3.183  |
|          | IV - H14  | 1.593  | 0.313 | 0.000 | 0.928  | 2.257  |
| II - H14 | I - H7    | -0.130 | 0.313 | 0.685 | -0.794 | 0.535  |
|          | II - H7   | 0.222  | 0.313 | 0.488 | -0.442 | 0.886  |
|          | III - H7  | 0.796  | 0.313 | 0.022 | 0.132  | 1.460  |
|          | IV - H7   | 0.519  | 0.313 | 0.117 | -0.146 | 1.183  |
|          | I - H14   | -0.870 | 0.313 | 0.013 | -1.535 | -0.206 |
|          | III - H14 | 1.648  | 0.313 | 0.000 | 0.984  | 2.312  |
|          | IV - H14  | 0.722  | 0.313 | 0.035 | 0.058  | 1.386  |

|           |           |        |       |       |        |        |
|-----------|-----------|--------|-------|-------|--------|--------|
| III - H14 | I - H7    | -1.778 | 0.313 | 0.000 | -2.442 | -1.114 |
|           | II - H7   | -1.426 | 0.313 | 0.000 | -2.090 | -0.762 |
|           | III - H7  | -0.852 | 0.313 | 0.015 | -1.516 | -0.188 |
|           | IV - H7   | -1.130 | 0.313 | 0.002 | -1.794 | -0.465 |
|           | I - H14   | -2.519 | 0.313 | 0.000 | -3.183 | -1.854 |
|           | II - H14  | -1.648 | 0.313 | 0.000 | -2.312 | -0.984 |
|           | IV - H14  | -0.926 | 0.313 | 0.009 | -1.590 | -0.262 |
| IV - H14  | I - H7    | -0.852 | 0.313 | 0.015 | -1.516 | -0.188 |
|           | II - H7   | -0.500 | 0.313 | 0.130 | -1.164 | 0.164  |
|           | III - H7  | 0.074  | 0.313 | 0.816 | -0.590 | 0.738  |
|           | IV - H7   | -0.204 | 0.313 | 0.525 | -0.868 | 0.460  |
|           | I - H14   | -1.593 | 0.313 | 0.000 | -2.257 | -0.928 |
|           | II - H14  | -0.722 | 0.313 | 0.035 | -1.386 | -0.058 |
|           | III - H14 | 0.926  | 0.313 | 0.009 | 0.262  | 1.590  |



### Lampiran D. Foto alat dan bahan penelitian



Catatan:

- |                        |                        |
|------------------------|------------------------|
| A : Bekker glass 50 ml | F : Alat pengaduk      |
| B : Labu ukur 100 ml   | G : Vitamin c uncoated |
| C : Aquadest steril    | H : Tissue             |
| D : Spatula            | I : Timbangan analitik |
| E : Pipet              |                        |



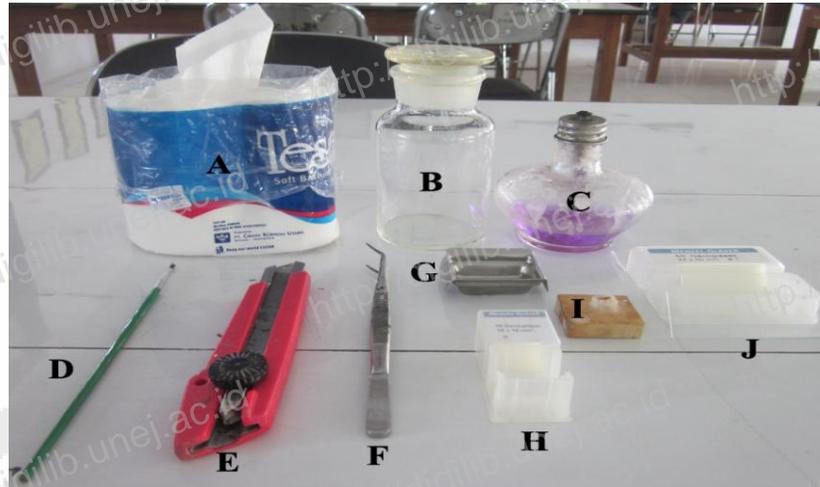
Catatan:

- |                        |                                     |
|------------------------|-------------------------------------|
| A : Timbangan analitik | J : Masker                          |
| B : Alat dekalsifikasi | K : Spatula semen                   |
| C : Tabung ukur 100 ml | L : Eskavator                       |
| D : Timbangan neraca   | M : Pinset                          |
| E : Bunsen             | N : Sonde lambung                   |
| F : Bekker glass 50 ml | O : Disposable syringe insulin 1 ml |
| G : Parafin            | P : Scalpel dan blade               |

H : Sarung tangan

I : *Headlight*

Q : Gunting



Catatan:

A : Tissue

B : Tabung dekalsifikasi

C : Bunsen

D : Kuas

E : *Cutter*

F : Pinset

G : Tempat blok parafin

H : *Deck glass*

I : Balok kayu

J : *Object glass*



Mikroskop binokuler



Mikrotom



Slide warmer



Inkubator



Waterbath



Catatan:

- A: Sentrifuse (*EBA, Germany*)  
 B: Tabung sentrifuse (*Pyrex, Japan*)

Corong pisah (*Duran, Germany*)



Catatan: Tikus Wistar Jantan umur 2 bulan

A : LPS *E. coli*  
B : PBS



Catatan: A : Eter Chloride  
B : Natrium klorida 0,9% (Saline normal)  
G : Aquadest steril

C : Minyak ikan lemuru  
D : Vitamin c uncoated  
E : Ketamin  
F : Aquabidest



Catatan:

- |                   |                          |
|-------------------|--------------------------|
| 1 : Alkohol 100%  | 9 : Entellan             |
| 2 : Xylol         | 10 : Kristal Hematoxylin |
| 3 : Parafin       | 11 : Obyek glass         |
| 4 : Formic Acid   | 12 : Deck glass          |
| 5 : Alkohol 95 %  | 13 : Minyak emersi       |
| 6 : Alkhohol 80%  |                          |
| 7 : Alkohol 70%   |                          |
| 8 : Kristal Eosin |                          |



Penyuntikan ketalar



Induksi LPS *E. Colli*



Sonde lambung pada tikus wistar jantan



Proses perendaman jaringan dengan formalin 10%

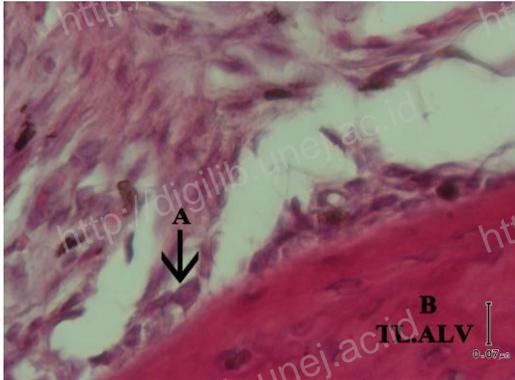


Proses perendaman jaringan dengan asam format 10%

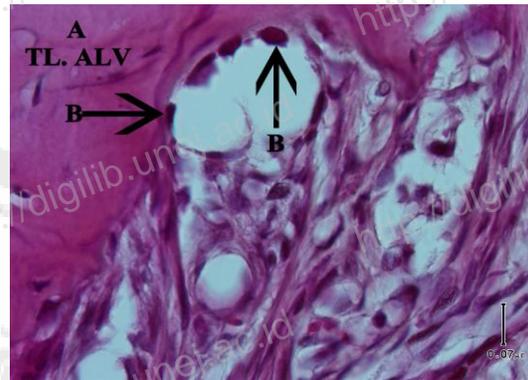


### Lampiran E. Foto Hasil Penelitian

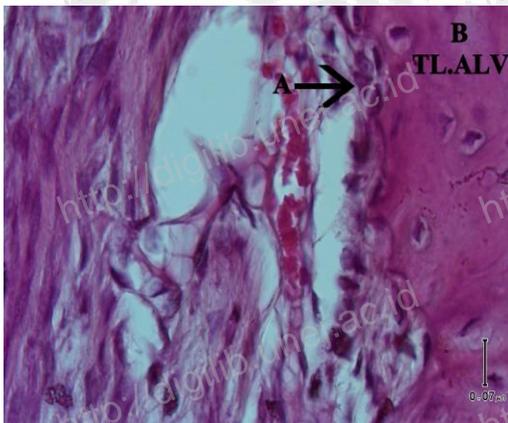
Foto sel osteoblas pada hari ke-7 menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 1000x



Kontrol (-) saline normal



Kontrol (+) LPS *E. coli*



Minyak ikan lemuru

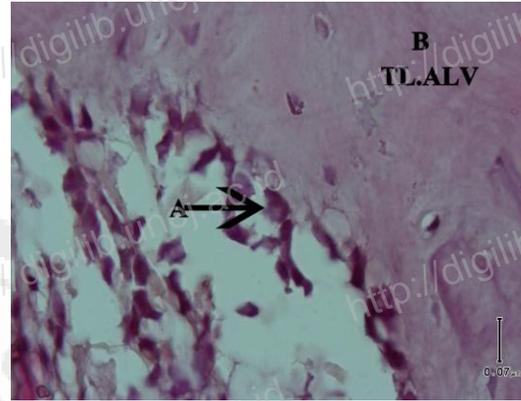


Minyak ikan lemuru & vitamin c

Foto sel osteoblas pada hari ke-14 menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 1000x



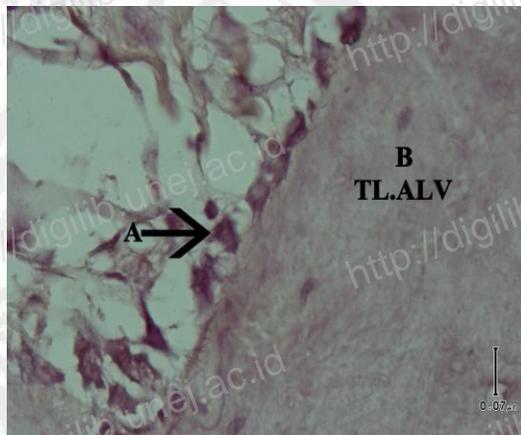
Kontrol (-) saline normal



Kontrol (+) *LPS E. coli*



Minyak ikan lemuru



Minyak ikan lemuru & vitamin c