



PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*) DAN VITAMIN C TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TIKUS WISTAR YANG MENGALAMI PERIODONTITIS

SKRIPSI

oleh:

**DESY KHASANAH PUSPITANINGRUM
NIM 081610101084**

**BAGIAN BIOLOGI MULUT
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiseps*)
DAN VITAMIN C TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TIKUS
WISTAR YANG MENGALAMI PERIODONTITIS**

SKRIPSI

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

oleh:

DESY KHASANAH PUSPITANINGRUM
NIM 081610101084

BAGIAN BIOLOGI MULUT
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Sulistiyono dan Bunda Sulistyorini yang tercinta;
2. Guru-guruku dan teman-temanku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
3. Almater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



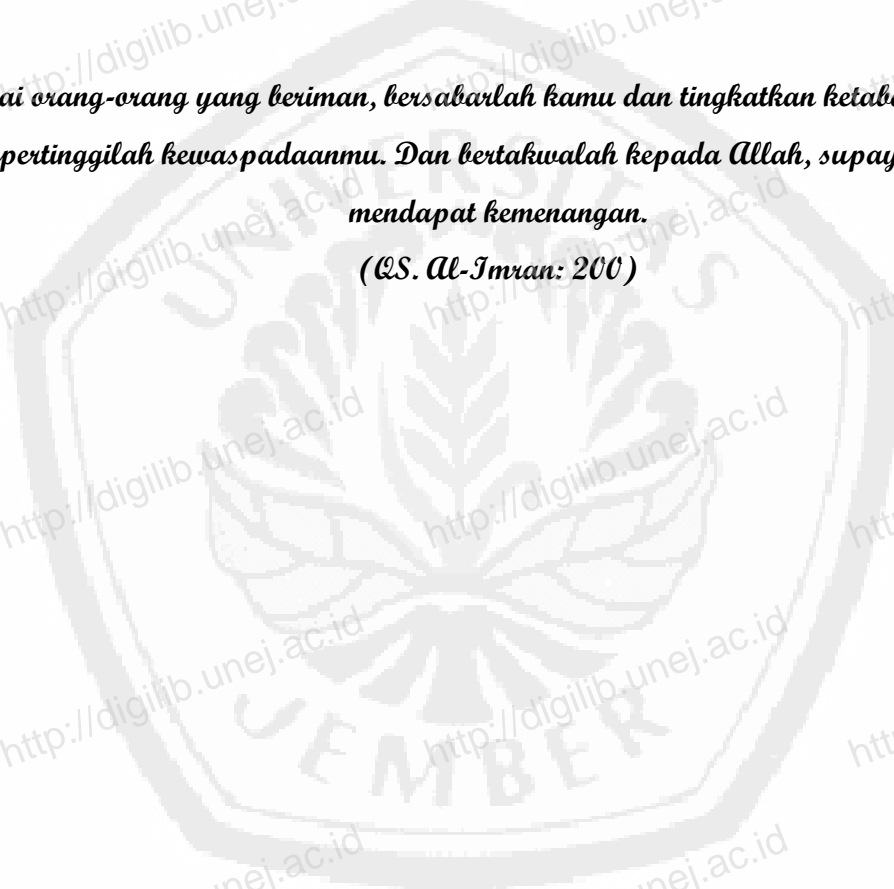
MOTTO

*Hai orang-orang yang beriman, jadikan sabar dan shalat sebagai penolongmu,
sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.*

(QS. Al-Baqarah:153)

*Hai orang-orang yang beriman, bersabarlah kamu dan tingkatkan ketabahan serta
pertinggiilah kewaspadaanmu. Dan bertakwalah kepada Allah, supaya kamu
mendapat kemenangan.*

(QS. Al-Imran: 200)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Desy Khasanah Puspitaningrum

NIM : 081610101084

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi yang berjudul: ” Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella Longisepts*) dan Vitamin C terhadap Jumlah Osteoklas pada Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 6 Juni 2012

Yang menyatakan,

Desy Khasanah P

NIM 081610101084

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiseps*)
DAN VITAMIN C TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TIKUS
WISTAR YANG MENGALAMI PERIODONTITIS**

Oleh

Desy Khasanah Puspitaningrum

NIM 081610101084

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.

Dosen Pembimbing Anggota: drg. Izzata Barid, M. Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella Longiseps*) dan Vitamin C terhadap Jumlah Osteoklas pada Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 14 Juni 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Tim Penguji

Ketua,

drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.

NIP 197308251998022001

Anggota I,

Anggota II,

drg. Izzata Barid, M.Kes.

NIP 196805171997022001

Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes

NIP 196903031997022001

Mengesahkan

Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes.

NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella Longiseps*) dan Vitamin C terhadap Jumlah Osteoklas pada Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis; Desy Khasanah Puspitaningrum, 081610101084; 2012: 67 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal merupakan penyebab utama hilangnya gigi. Penyakit tersebut dapat terjadi karena adanya mikroorganisme rongga mulut yang berkoloni pada plak gigi dan berkontak dengan margin gingiva sehingga menimbulkan sejumlah infeksi yang dapat memicu terjadinya peradangan. Respon peradangan yang ditimbulkan dapat bersifat nondestruktif tulang alveolar seperti gingivitis atau destruktif tulang alveolar seperti periodontitis (Breivik & Rook, 2004). Periodontitis dapat menyebabkan teresorbsinya tulang alveolar (Caranza *et al.*, 2006). Resorpsi tulang alveolaris pada tikus dapat dihambat dengan pemberian minyak ikan (Indahyani *et al.*, 2001). Minyak ikan merupakan nutrien yang kaya omega 3 PUFA (*poly unsaturated fatty acids*) seperti EPA (*eicosapentaenoid acid*) dan DHA (*docohexaenoid acid*) (Indahyani, 2003). Omega-3 yang terdapat di dalam minyak ikan ternyata bersifat sangat tidak stabil, yaitu omega-3 yang terlalu banyak dalam sel-sel tubuh akan lebih mudah teroksidasi oleh radikal bebas (Harli, 1999). Pembentukan radikal bebas dapat dicegah dengan menggunakan zat gizi yang berperan sebagai antioksidan seperti vitamin C (Atun, 2007). Vitamin C juga berperan mensintesis matriks kolagen tipe 1 (Harijanti, 1996) dan memainkan peranan penting dalam mempertahankan massa tulang dengan merangsang pembentukan osteoblas dan menekan osteoklas (Huston, 2010). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longiseps*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami infeksi periodontitis.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Februari-April

2012. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus wistar. Sampel dikelompokkan menjadi 5 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar (Kelompok I diinduksi salin normal, Kelompok II diinduksi LPS, Kelompok III diinduksi LPS dan minyak ikan, Kelompok IV diinduksi LPS dan Vitamin C, Kelompok V diinduksi LPS, minyak ikan dan Vitamin C). Kelompok yang ada dibagi kembali menjadi dua kelompok khusus dimana masing-masing kelompok khusus terdiri dari 3 ekor tikus (kelompok untuk perlakuan hari ke 7 dan ke 14). Setelah hari ke 7 dan ke 14 hewan coba dikorbankan dan dipotong rahang bawah kanan dan dibuat sediaan histologi. Setiap preparat dipotong 3 irisan dengan masing-masing irisan diamati seluruh lapang pandang dan dihitung jumlah osteoklas kemudian dirata-rata setiap preparat.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan jumlah osteoklas selanjutnya dianalisa dengan uji statistik *oneway* Anova dan didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa minyak ikan dan vitamin C mempengaruhi jumlah osteoklas.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minyak ikan lemuru ditambah vitamin C dapat menghambat jumlah osteoklas namun tidak lebih efektif dibandingkan dengan pemberian minyak ikan saja maupun pemberian vitamin C saja. Hal ini dikarenakan minyak ikan dan vitamin C berbeda massa jenis dan adanya perbedaan absorpsi di usus antara minyak ikan lemuru dan vitamin C. Jika minyak ikan lemuru dalam absorpsi membutuhkan enzim empedu sedangkan vitamin C tidak membutuhkan zat lain dari tubuh, sehingga metabolisme tidak sempurna (Andarwulan, dkk., 1992).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin C dapat menurunkan jumlah osteoklas pada tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis, namun tidak lebih efektif dibandingkan dengan pemberian minyak ikan saja maupun vitamin C saja.

PRAKATA

Puji Syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, taufik, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella Longisepts*) dan Vitamin C terhadap Jumlah Osteoklas pada Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M. Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. drg. Happy Harmono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberi motivasi dan nasehat-nasehat selama ini;
6. Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. Teknisi Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember yang telah membantu dalam penelitian skripsi ini;
8. Bapak Sulistiyono dan Bunda Sulistyorini tercinta, serta seluruh keluarga besar, terimakasih atas cinta dan kasih sayang yang selalu tercurah, doa yang selalu tulus terucap untuk kelancaran studiku;
9. Adik-adikku Wahyu Agung Wibowo dan Fita Khusnul Khotimah tercinta, yang telah memberikan semangat, doa dan dukungan yang tak pernah habis-habisnya;

10. Rekan-rekanku seperjuangan dalam penelitian ini: Verieska Harit Devayanti dan Rahmaniar Dwiya Safitri terima kasih atas kerja sama, bantuan, dan dukungan yang diberikan;
11. Seluruh keluarga Mastrip 45: Ibu Elis, Mbak Ana, Mas Imron, si kembar Keisya-Kanza, Paulina, Falefhi, Sayidatu, Nia, dan Adelin yang sangat membantuku selama ini, terima kasih atas dukungan kalian;
12. Teman-teman yang selalu ada dan selalu membantu Laura Ganes Sadika, Ira Latifatul Mufida, Tri Mey Sulistiyono, Yulia Lestari makasih atas bantuan dan selalu mendengarkan keluh kesah selama penelitian skripsi ini.
13. Rekan-rekan angkatan 2008 yang kubanggakan, terima kasih atas kerja samanya dan semoga kita sukses selalu;
14. Guru-guruku terhormat mulai TK, SD, SMP, SMA hingga Perguruan Tinggi yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya;
15. Peserta seminarku dan semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis telah berupaya sekuat tenaga dan pikiran dalam pembuatan dan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Juni 2012

Penulis

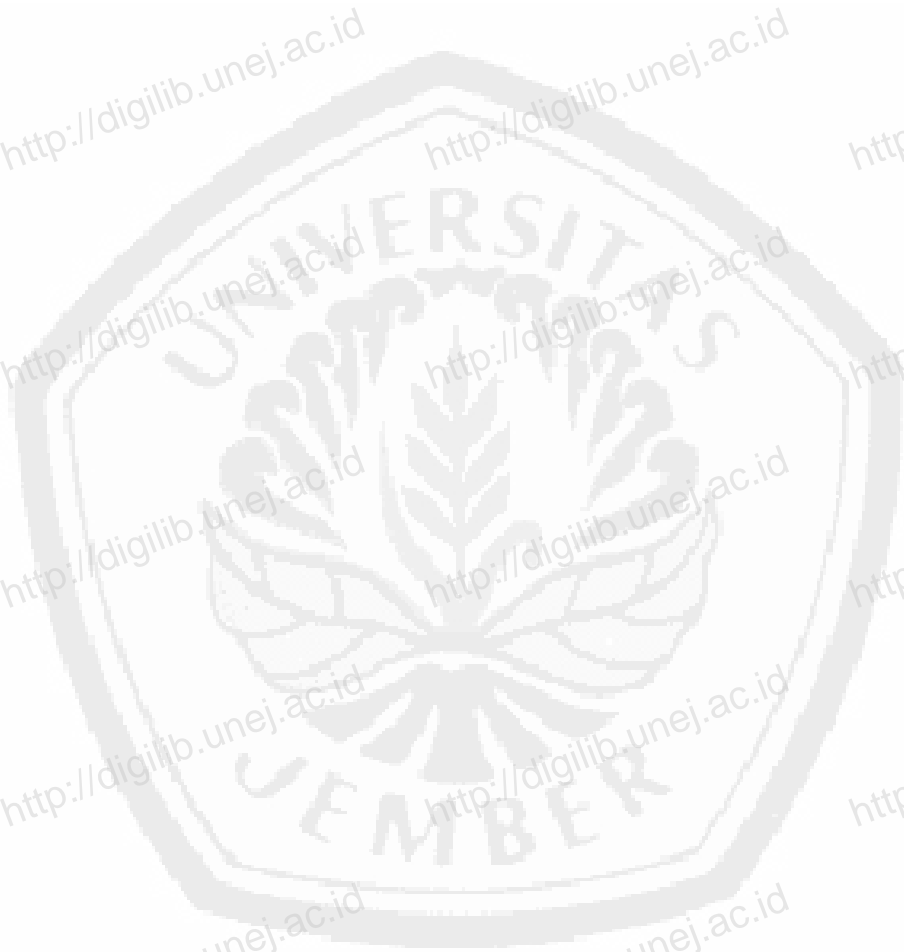
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Ikan Lemuru	4
2.1.1 Klasifikasi Ikan Lemuru	4
2.1.2 Morfologi Ikan Lemuru	4
2.1.3 Habitat ikan lemuru	5
2.2 Minyak Ikan Lemuru.....	5
2.2.1 Definisi Minyak Ikan Lemuru.....	5
2.2.2 Kandungan Minyak Ikan Lemuru.....	6

2.2.3 Proses Pembuatan Minyak Ikan Lemuru.....	7
2.2.4 Metabolisme Minyak Ikan Lemuru.....	8
2.2.5 Manfaat Minyak Ikan Lemuru.....	9
2.3 Vitamin C	10
2.3.1 Definisi Vitamin C.....	10
2.3.2 Fungsi Vitamin C	11
2.3.3 Metabolisme Vitamin C.....	12
2.3.4 Sumber Vitamin C.....	12
2.3.5 Devisiensi Vitamin C.....	12
2.3.6 Hipervitaminosis Vitamin C.....	13
2.3.7 Peran Vitamin C sebagai Antioksidan.....	13
2.4 Periodontitis	14
2.4.1 Etiologi Periodontitis	15
2.4.2 Gejala Periodontitis.....	15
2.4.3 Mekanisme Periodontitis.....	16
2.4.4 Patogenesis Periodontitis.....	16
2.5 Tulang	17
2.6 Osteoklas	18
2.7 Kerangka Konseptual.....	20
2.8 Hipotesis	20
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Rancangan Penelitian	21
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3.1 Tempat Penelitian	21
3.3.2 Waktu Penelitian	21
3.4 Identifikasi Variabel	21
3.4.1 Variabel Bebas	21

3.4.2 Variabel Terikat	21
3.4.3 Variabel Terkendali	22
3.5 Definisi Operasional	22
3.5.1 Minyak Ikan Lemuru	22
3.5.2 Vitamin C	22
3.5.3 Osteoklas	22
3.6 Populasi dan Sampel Penelitian	23
3.6.1 Populasi Penelitian	23
3.6.2 Kriteria Sampel	23
3.6.3 Sampel Penelitian	23
3.7 Konversi Dosis	24
3.8 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.8.1 Alat Penelitian	25
3.8.2 Bahan Penelitian	26
3.9 Prosedur Penelitian	27
3.9.1 Tahap Persiapan Hewan Coba	27
3.9.2 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba	27
3.9.3 Tahap Pembuatan Preparat	29
3.9.4 Tahap Pengecatan <i>Haematoxilin Eosin</i>	31
3.9.5 Tahap Perhitungan Jumlah Sel Osteoklas	31
3.10 Analisa Data	32
3.11 Alur Penelitian	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil Penelitian	34
4.2 Analisa Data	37
4.3 Pembahasan	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44

5.2 Saran	44
DAFTAR BACAAN.....	45
LAMPIRAN	52



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kadar EPA dan DHA pada beberapa jenis minyak ikan	6
4.1 Rata-rata Jumlah Osteoklas pada Kelompok Perlakuan Hari ke 7 dan ke 14	34
4.2 Hasil Uji Normalitas pada Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoklas.....	37
4.3 Hasil Uji Homogenitas pada Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoklas	37
4.4 Hasil Uji <i>One way Anova</i> terhadap Rata-rata Jumlah Osteoklas	38
4.5 Ringkasan Signifikansi Uji Beda LSD terhadap Rata-rata Jumlah Osteoklas	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Ikan lemuru.....	5
2.2 Minyak ikan (<i>fish oil</i>) dalam kemasan kapsul.....	6
2.3 Skema Alur Konsep yang Mendasari Landasan Teori.....	20
3.1 Skema Alur Penelitian Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella Lemuru</i>) dan vitamin C terhadap Jumlah Osteoklas Tikus Wistar Jantan dengan Periodontitis Eksperimental	33
4.1 Grafik Rata-rata Jumlah Osteoklas pada Kelompok Perlakuan Hari ke 7 dan Hari k 14.....	35
4.2 Osteoblas pada tulang alveolar pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-7	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Ijin Penelitian	52
A1. Surat Ijin Penelitian Lab. Farmakologi.....	52
A2. Surat Ijin Penelitian Lab. Histologi.....	53
B. Ethical Clearance	54
C. Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoklas.....	55
D. Uji Statistik	59
E. Foto Penelitian	62
E.1 Alat Penelitian	62
E.2 Bahan Penelitian	66
E.3 Foto Perlakuan Penelitian	68
F. Foto Hasil Penelitian	69

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) di Indonesia merupakan sumber bahan baku utama pembuatan minyak ikan (Permadi, 2003). Minyak ikan merupakan lemak yang berbentuk cair yang berasal dari ikan (Winarno, 1997). Selama ini minyak ikan lemuru diperdagangkan untuk pakan ternak, pelepasan dalam penyamakan kulit, industri cat dan tinta dengan harga yang murah (Permadi, 2003).

Minyak ikan memiliki manfaat yang tinggi bagi kesehatan, antara lain sebagai anti radang, anti trombosis, anti aritmik, anti arterosklerosis, meningkatkan fungsi endotel, menurunkan tekanan darah dan konsentrasi triglisida (Din *et al.*, 2004). Minyak ikan merupakan nutrisi yang kaya omega 3 PUFA (*poly unsaturated fatty acids*) seperti EPA (*eicosapentaenoic acid*) dan DHA (*docosahexaenoic acid*). Nutrisi ini dapat menekan produksi mediator proinflamasi baik produk dari sitokin maupun asam arakidonat (Indahyani, 2003).

Penyakit gigi dan mulut yang banyak ditemukan di masyarakat diantaranya adalah periodontitis (Indirawati, 2002). Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan mikroorganisme tertentu dan mengakibatkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan pembentukan poket, terjadinya resesi atau keduanya (Carranza *et al.*, 2006).

Periodontitis disebabkan oleh perubahan komposisi bakteri yang semula sebagian besar adalah bakteri aerob gram positif yang berhubungan dengan gingivitis menjadi bakteri anaerob gram negatif subgingiva yang kompleks dan lebih spesifik (Socransky dan Haffajee dalam Breivik dan Rook, 2000). Gram negatif anaerob mengeluarkan produk-produk diantaranya endotoksin biologis aktif atau lipopolisakarida (LPS) yang menyebabkan aktivitas biologis sehingga terjadi peradangan (Djais, 2006).

Pada peristiwa peradangan produk bakteri ini merangsang monosit atau makrofag, limfosit, fibroblas dan sel endotel untuk mengeluarkan mediator inflamasi (Wilson dan Kornman, 1996 dan Latham, 2007). Mediator tersebut memacu terbentuknya osteoklas dari sel stroma sehingga menyebabkan teresorbsinya tulang alveolar (Carranza *et al.*, 2006).

Resorpsi tulang alveolaris pada tikus dapat dihambat dengan pemberian minyak ikan (Indahyani *et al.*, 2001), oleh karena terjadinya penurunan jumlah aktivitas preosteoklas serta osteoklas (Indahyani *et al.*, 2002). Diet minyak ikan yang banyak mengandung n-3 PUFA khususnya EPA dan DHA terbukti menurunkan mediator resorpsi tulang yaitu prostaglandin maupun sitokin proinflamasi yaitu IL-1 α , IL-1 β dan TNF- α . Penurunan PGE₂, IL-1 maupun TNF- α menyebabkan aktivitas osteoblas meningkat dan pembentukan osteoklas pada tulang alveolar terhambat (Indahyani, 2008).

Menurut Harli (1999), omega-3 yang terdapat di dalam minyak ikan ternyata bersifat sangat tidak stabil, yaitu omega-3 yang terlalu banyak dalam sel-sel tubuh akan lebih mudah teroksidasi oleh radikal bebas. Salah satu cara pencegahan pembentukan radikal bebas adalah dengan menggunakan zat gizi yang dapat berperan sebagai antioksidan seperti vitamin C (Atun, 2007).

Vitamin C dalam bentuk asam askorbat berperan menghambat pembentukan radikal bebas (Carr *et al.*, 2000). Vitamin C juga berperan mensintesis matriks kolagen tipe 1 sehingga mempercepat proses perbaikan jaringan yang mati atau rusak dengan jaringan baru (Harijanti, 1996). Vitamin C memainkan peranan penting dalam mempertahankan massa tulang dengan merangsang pembentukan osteoblas yang membentuk tulang baru dan menekan osteoklas dalam meresorpsi tulang (Huston, 2010).

Osteoklas merupakan suatu turunan monosit yang dibentuk di sumsum tulang. Osteoklas pada keadaan normal bekerja aktif di daerah permukaan tulang. Osteoklas mengeluarkan tonjolannya yang menyerupai vili ke arah tulang. Vili tersebut menyekresikan dua macam zat: enzim proteolitik dan beberapa asam yang meliputi

asam laktat dan asam sitrat. Enzim tersebut akan mencerna dan melarutkan matriks organik tulang dan asam menimbulkan terlarutnya garam tulang (Guyton & Hall, 2008).

Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin mengetahui pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami infeksi periodontitis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka timbul permasalahan yang dapat dirumuskan sebagai berikut:

Apakah pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) dan vitamin C berpengaruh terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami infeksi periodontitis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami infeksi periodontitis.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat memberikan sumbang ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran gigi tentang pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) dan vitamin C terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami periodontitis.
2. Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dan acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Lemuru

2.1.1 Klasifikasi Ikan Lemuru

Ikan lemuru terdiri beberapa jenis, diantaranya: *Sardinella longiceps* (*Sardinella lemuru*), *S. Aurita*, *S. Leiogaster*, dan *S. Clupeoides* (Burhanudin dalam Anonymous, 2002). Beberapa jenis ikan tersebut dalam Statistik Perikanan Indonesia digabung menjadi satu dengan nama lemuru (*Sardinella longiceps*) (Merta, *et al.*, 2000).

Pada tahun 1985, FAO (*Food Agriculture Organization*) mempublikasikan ikan lemuru dengan nama *Sardinella longisepts* atau nama lainnya Bali sardinella. Sejak saat itu, *Sardinella lemuru* menjadi nama ilmiah untuk ikan lemuru (Merta *et al.*, 2000). Taksonomi dari ikan lemuru (*Sardinella longisepts*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Subphylum : Vertebrata
Klas : Actinopterygii
Order : Clupeiformes
Suborder : Clupeidoi
Family : Clupeidae
Subfamily : Clupeinae
Genus : *Sardinella*
Species : *Sardinella longiceps* (Bali sardinella)

(Catalog of Fishes, 2004).

2.1.2 Morfologi Ikan Lemuru

Ikan lemuru memiliki panjang mencapai 20 cm, tetapi biasanya \pm 10-15 cm. Tubuhnya berwarna biru kehijauan dibagian atas, putih perak pada bagian bawah,

tidak terdapat bercak gelap pada dasar sirip punggung dan pinggiran tepi sirip ekor berwarna gelap. Ikan lemuru mudah dibedakan dari semua *clupeid* lainnya dengan 9 jari-jari sirip perut (Kimura, *et al.*, 2007).



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

2.1.3 Habitat ikan lemuru

Ikan lemuru hidup di laut pada kedalaman 20-200 m, makanan utama ikan lemuru adalah fitoplankton dan udang-udang kecil. Ikan ini berkembang biak hanya satu kali dalam satu tahun yaitu pada saat salinitas dan temperatur air laut rendah (Whitehead, 1985). Ikan lemuru mendiami perairan Samudra Hindia bagian timur seperti Pukhet (Thailand), pantai selatan dari Jawa dan Bali (Indonesia), Australia Barat dan Samudra Pasifik bagian barat (Filipina, Hongkong, Taiwan dan bagian selatan Jepang). Konsentrasi terbesar ikan lemuru di Indonesia adalah di Selat Bali dan sekitarnya (Merta *et al.*, 2000).

2.2 Minyak Ikan Lemuru

2.2.1 Definisi Minyak Ikan Lemuru

Minyak ikan merupakan lemak berbentuk cair, berasal dari ikan. Minyak tersebut diisolasi dari ikan yang hidup pada tumbuhan di bawah permukaan laut, misalnya ikan cod, hiu dan hering (Peck, 1994; Winarno, 1997). Minyak ikan lemuru merupakan limbah atau hasil samping yang diperoleh dari proses pengalengan (5%) dan penepungan (10%) ikan lemuru (Harmayani, *et al.*, 2000; Permadi, 2003).



Gambar 2.2 Minyak ikan (*fish oil*) dalam kemasan kapsul.

(Kindersley, 2006)

2.2.2 Kandungan Minyak Ikan Lemuru

Minyak Ikan Lemuru ml mengandung total asam lemak omega-3 sebanyak 25%-30%. Kandungan asam lemak omega-3 dalam minyak ikan lemuru terdiri dari *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) yang berturut-turut sebesar 18% dan 13% (tabel 2.1). Kandungan ini mempunyai peranan penting bagi kesehatan manusia (Harmayani *et al.*, 2000).

Tabel 2.1 kadar EPA dan DHA pada beberapa jenis minyak ikan

Jenis Minyak Ikan	EPA (%)	DHA (%)
Tuna	7	20
Salmon	6	10
Cod	11	21
Herring	9	6
Lemuru	18	13

Sumber: Niazi dalam Dewi, 1996; Harmayani *et al.*, 2000

Sifat kimia minyak ikan seperti dikemukakan oleh Weiss (1983) adalah sebagai berikut:

- a. Mudah beroksidasi dengan udara dan bersifat asam lemak karena adanya asam lemak bebas.

b. Mempunyai sifat aditif karena ikatan-ikatan karbon tak jenuh.

c. Mempunyai sifat berpolimerisasi.

Sifat fisik dari minyak ikan antara lain:

a. Mempunyai berat jenis yang lebih kecil daripada berat jenis air.

b. Membiaskan cahaya dengan sudut yang spesifik untuk setiap jenis minyak ikan.

c. Mempunyai derajat kekentalan yang spesifik.

d. Lemak minyak ikan mempunyai sifat tidak larut dalam air tetapi larut dalam lemak *eter*, *benzene*, *petroleum eter*. Minyak ikan berwarna kuning muda sampai kuning emas (Weiss, 1983).

2.2.3 Proses Pembuatan Minyak Ikan Lemuru

Tahap proses pembuatan minyak ikan antara lain:

a. Pemasakan (*cooking*) dengan menggumpalkan protein, memisahkan minyak dan air. Pemasakan merupakan tahap yang penting, dilakukan dengan pemanasan 90-100°C dalam 15-20 menit.

b. Pengepresan (*pressing atau centrifugation*), melepaskan fraksi besar cairan dari massa ikan.

c. Pemisahan (*separation*) cairan dari minyak dan air.

Minyak ikan yang bermutu baik diperoleh dengan memurnikan minyak dan lemak mentah dari bahan-bahan atau kotoran yang terdapat di dalamnya.

Tahap pemurnian minyak dalam pembuatan minyak dapat dibagi menjadi beberapa tahap sebagai berikut:

a. Pengendapan (*settling*) dan pemisahan gumi (*degumming*), yang bertujuan menghilangkan partikel-partikel halus yang bersuspensi atau berbentuk koloidal. Pemisahan ini dilakukan dengan pemanasan uap dan adsorben.

b. Netralisasi (*neutrolization*) dengan alkali, bertujuan memisahkan senyawa-senyawa terlarut seperti fosfatida, asam lemak bebas, dan hidrokarbon.

c. Pemucatan (*bleaching*), bertujuan menghilangkan zat-zat warna dalam minyak dengan penambahan *adsorbing agent* seperti arang aktif, tanah liat, atau dengan reaksi-reaksi kimia.

d. Penghilangan bau (*deodorization*) lemak, dilakukan dengan botol vakum, kemudian dipanaskan dengan mengalirkannya uap panas yang akan membawa senyawa *volatile*. Setelah proses deodorisasi, lemak harus segera didinginkan untuk mencegah kontak dengan O₂ (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 5⁰C 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 digliserida, asam lemak bebas, uap lumpur, sedikit logam, protein, dan pigmen (Wang, 1998). Emulsi adalah suatu *disperse* atau *suspense* cairan dalam cairan yang lain. Molekul-molekul kedua cairan tersebut tidak saling berbaur tetapi saling antagonistik. Emulsi terdiri dari tiga bagian utama yaitu bagian yang terdispensi yang berupa butiran-butiran lemak, media terdispensi 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 level gumi (getah), dan peningkatan protein koloid serta bahan-bahan lainnya dalam minyak akan menyebabkan sulitnya tahap pemurnian minyak ikan (Wang, 1998).

2.2.4 Metabolisme Minyak Ikan lemuru

Minyak ikan kaya akan asam lemak omega-3 rantai panjang *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang terdiri dari *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *decohexaenoic acid* (DHA). Omega-3 PUFA berasal dari α -linolenic acid (ALA),

kemudian omega-3 PUFA tersebut diubah menjadi DHA dalam jumlah kecil yang terjadi dalam proksisom melalui serangkaian proses yang kompleks (Kondo, dkk., dalam 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, neutrofil, sel-sel etina, monosit, sel hati, sel neorblastoma dan platelets (Simopoulos, 2000). Kandungan AA dalam jaringan akan berkurang karena digantikan oleh EPA sebagai antagonis asam arakidonat dan metabolitnya (Whelan dalam Indahyani, 2001).

2.2.5 Manfaat Minyak Ikan Lemuru

Selama ini pemanfaatan minyak ikan lemuru belum dilakukan secara optimal. Minyak ikan lemuru biasanya diperdagangkan sebagai pakan ternak, pelepasan dalam penyamakan kulit, industri cat dan tinta dengan harga yang murah (Permadi, 2003). 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 dari para ahli kesehatan. Asam lemak omega-3 merupakan salah satu kandungan minyak ikan yang sangat penting. Zat ini berperan untuk meningkatkan kesehatan serta mencegah munculnya penyakit degeneratif. Minyak ikan dapat dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit kardiovaskuler, perawatan hiperlipidemia, pencegahan arterosklerosis dan rheumatoid arthritis (Oh, 2005).

Minyak ikan ditinjau dari aspek gizi adalah: mengandung asam lemak esensial (EPA) yang penting untuk mempercepat laju pertumbuhan sehingga defisiensi EPA dapat menimbulkan penyakit seperti halnya penyakit defisiensi vitamin atau mineral, minyak ikan mengandung asam lemak linoleat yaitu omega-3 (Sasmitho *et al.*, 1996). Omega-3 yang terdapat pada minyak ikan sebagian besar (lebih dari 60%) diperlukan sebagai unsur penyusun dinding sel neuron. Sedangkan sisa DNA lainnya diperlukan sebagai unsur pembentuk cawan untuk wadah rhodopsin yaitu senyawa vital untuk penginderaan (Harli, 1999). Selain itu omega-3 yang terdapat dalam minyak ikan juga

bersifat antikeradangan, antiaterosklerosis, antitrombosis, meningkatkan fungsi sel endotel, menurunkan tekanan darah dan menurunkan kadar trigliserida (Din *et al.*, 2004), minyak ikan juga mengandung vitamin A dan D. Vitamin A bermanfaat untuk fungsi retina, pertumbuhan tulang, diferensiasi epitel, reproduksi sistem imun, sedangkan vitamin D bersifat antirakhitis yang bermanfaat bagi tulang (Dorland, 1998; Larsen, 2005).

Walkins, *et al.* (1996) melaporkan bahwa diet tinggi n-3 PUFA yang terkandung dalam minyak ikan, mengakibatkan rendahnya produksi PGE₂ pada tulang tibia ayam dan kultur organ tulang. Karena n-3 PUFA mampu menurunkan PGE₂ tulang, sehingga dikatakan bahwa diet n-3 PUFA meningkatkan pembentukan tulang (Walkins, *et al.*, 2000). Meydani, *et al.* (1991) menunjukkan bahwa produksi sitokin yaitu IL-1 β , IL-6 dan TNF- α dari sel mononuklear secara bermakna lebih rendah pada manusia setelah mengkonsumsi minyak ikan.

2.3 Vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) merupakan salah satu vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Kekurangan vitamin C telah dikenal sebagai penyakit sariawan dengan gejala gusi berdarah, sakit lidah, nyeri otot, dan sendi, berat badan berkurang, lesu, dan lain-lain. Vitamin C mempunyai sifat sebagai antioksidan yang dapat melindungi molekul-molekul yang sangat diperlukan oleh tubuh seperti protein, lipid, karbohidrat, dan asam nukleat dari kerusakan oleh radikal bebas dan reaktif oksigen (Arifin *et al.*, 2007).

2.3.1 Definisi Vitamin C

Vitamin C merupakan kristal yang tidak berwarna bersifat larut dalam air, sedikit larut dalam aseton atau alkohol yang mempunyai berat molekul yang rendah. Vitamin C sukar larut dalam chloroform, ether, dan benzena. Pada pH rendah, vitamin C lebih stabil daripada pH tinggi. Vitamin C mudah teroksidasi, lebih-lebih apabila katalisator Fe, Cu, enzim askorbat oksidase, sinar, temperatur yang tinggi (Sudarmadji *et al.*, 2007).

2.3.2 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, 1996). Proses metabolisme yang begitu banyak di dalam tubuh kita ini dipengaruhi oleh vitamin C, namun mekanismenya belum diketahui dengan pasti (Alamatsier, 2003). Peranan metabolik yang sangat spesifik dari vitamin C adalah pada proses hidroksilasi dari prolin menjadi hidroksoprolin dan lisin menjadi hidroksilisin pada proses pembentukan kolagen (Dolby dkk dalam Harijanti, 1996).

Vitamin C merupakan kebutuhan yang penting untuk pembentukan kolagen, suatu proses 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, dan untuk perbaikan serta pemeliharaan kartilago, tulang dan gigi. Tanpa asam askorbat maka serat kolagen yang terbentuk dalam semua jaringan menjadi cacat dan lemah (Guyton *et al.*, 1997).

Vitamin C juga berperan dalam penyembuhan dan perbaikan kartilago, tulang dan gigi. 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 fraktur tidak dapat sembuh (Guyton *et al.*, 1997).

Vitamin C atau asam askorbat memainkan penting dalam mempertahankan massa tulang, yaitu dengan mempromosikan keseimbangan antara resorpsi tulang lama dan pembentukan tulang baru. Study menunjukkan bahwa asam askorbat atau vitamin C baik menekan osteoklas, yang mempromosikan resorpsi tulang, dan merangsang pengembangan osteoblas yang membentuk tulang baru (Huston, 2010).

Vitamin C juga berfungsi sebagai berikut:

1. Sintesis karnitin, noradrenalin, serotonin dan lain-lain.

2. Adsorpsi dan metabolisme besi

Pada saat mengonsumsi vitamin C maka feri direduksi menjadi fero dalam usus halus sehingga mudah diabsorpsi

3. Adsorpsi kalsium

Vitamin C membantu absorpsi kalsium 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).

2.3.3 Metabolisme Vitamin C

Absorpsi vitamin C sangat mudah pada bagian atas usus halus lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Defisiensi vitamin C diakibatkan intake makanan yang tidak cukup karena vitamin C mudah diadsorpsi dalam usus, vitamin C kemudian dibawa ke semua jaringan. Konsentrasi tertinggi vitamin C terdapat dalam jaringan adrenal, pituitari dan retina (Almatsier, 2003).

2.3.4 Sumber Vitamin C

Vitamin C tidak dapat dibuat oleh tubuh sehingga perlu dicukupi dari buah dan sayuran. Antara lain jeruk, pepaya, anggur, mangga, jambu monyet, jambu biji, nanas, rambutan. Kita dapat memperoleh vitamin C dari sayuran yang berupa daun singkong, daun katuk, daun melinjo, daun pepaya, sawi kol, tomat masak, kangkung, bayam, kemangi, dan masih banyak yang lainnya (Zakaria *et al.*, 1996).

2.3.5 Devisiensi Vitamin C

Devisiensi vitamin C yang paling sering kita ketahui adalah scuvy atau skorbut. Salah satu efek skorbut yang paling penting adalah kegagalan penyembuhan luka. Sehingga penyembuhan luka menjadi lebih lama, yang biasanya beberapa hari

menjadi beberapa bulan. Pada scovy juga dapat kita lihat akibat nyata gangguan sintesis unsur organik utama matriks tulang. Karena vitamin C yang berfungsi sebagai kofaktor dalam peristiwa hidrosilasi dari prolin dan lisin sangat kurang dalam diet maka kolagen tidak dapat mengambil bentuk triple (*triple helix*). Oleh karena itu vitamin C sangat penting untuk pertumbuhan dan penyembuhan tulang sebab vitamin C juga dapat meningkatkan absorpsi kalsium (Cormack, 1994).

Tanda-tanda yang lain adalah lelah, lemah, nafas pendek, kejang otot, tulang, otot dan persendian sakit serta kurang nafsu makan, kulit menjadi kering, kasar, dan gatal, warna merah kebiruan di bawah kulit, perdarahan gusi, kedudukan gigi menjadi longgar, mulut dan mata kering, serta rambut merah (Almatsier, 2003).

2.3.6 Hipervitaminosis Vitamin C

Vitamin C berasal dari makanan tidak menimbulkan gejala apabila di dalam tubuh terdapat jumlah berlebih. Vitamin C dalam bentuk suplemenlah yang dapat menimbulkan hiperoksaluria dan resiko lebih tinggi terdapat batu ginjal bila dikonsumsi secara berlebihan tiap hari. Walaupun resiko batu oksalat karena vitamin C dosis tinggi masih begitu rendah tetapi hal ini dapat menjadi berarti pada seseorang yang mempunyai kecenderungan untuk pembentukan batu ginjal.

2.3.7 Peran Vitamin C sebagai Antioksidan

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).

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)

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan 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).

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

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).

2.4 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).

2.4.1 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, 2004).

Faktor-faktor virulensi bakteri merupakan antigen yang akan mengaktifkan limfosit dengan akibat dilepaskannya mediator-mediator limfokin seperti interleukin, interfeon, prostaglandin. Bahan IL-1 berperan penting dalam regulasi imunologik, reaksi-reaksi inflamasi, resorpsi tulang, dan dalam patogenesis penyakit periodontal destruktif (Mustaqimah, 2002).

2.4.2 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).

2.4.3 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 ligo-lisosom, dapat diikuti dengan berkembangnya bakteri-bakteri di dalam sel-sel fagosit (Carranza, 2006).

2.4.4 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 endototoksin LPS dari dinding sel bakteri Gram negaif anaerob menyebabkan aktivitas biologis yang merusak jaringan. Endotoksin mempunyai kemampuan yang tinggi sebagai substansi toksisk 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- α* (TNF- α), prostaglandin E₂ (PGE₂) dan enzim hidrolitik (Carranza, 2006).

Sekresi mediator peradangan seperti sitokin 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).

2.5 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 *et al.*, 1996). Tulang terdiri atas

osteoblas, osteoklas, osteoid, mineral dan kolagen. Sel yang berkaitan dengan proses resorpsi tulang adalah osteoklas (Mustaqimah, 2002).

2.6 Osteoklas

Osteoklas adalah sel motil bercabang yang sangat besar. Bagian badan sel yang melebar mengandung 5 sampai 50 inti (atau lebih). Pada daerah terjadinya resorpsi tulang, osteoklas terdapat di dalam lekukan yang terbentuk akibat kerja enzim pada matriks, yang dikenal sebagai Lakuna Howship. Osteoklas berasal dari penggabungan sel-sel sumsum tulang (Junqueira *et al.*, 2007).

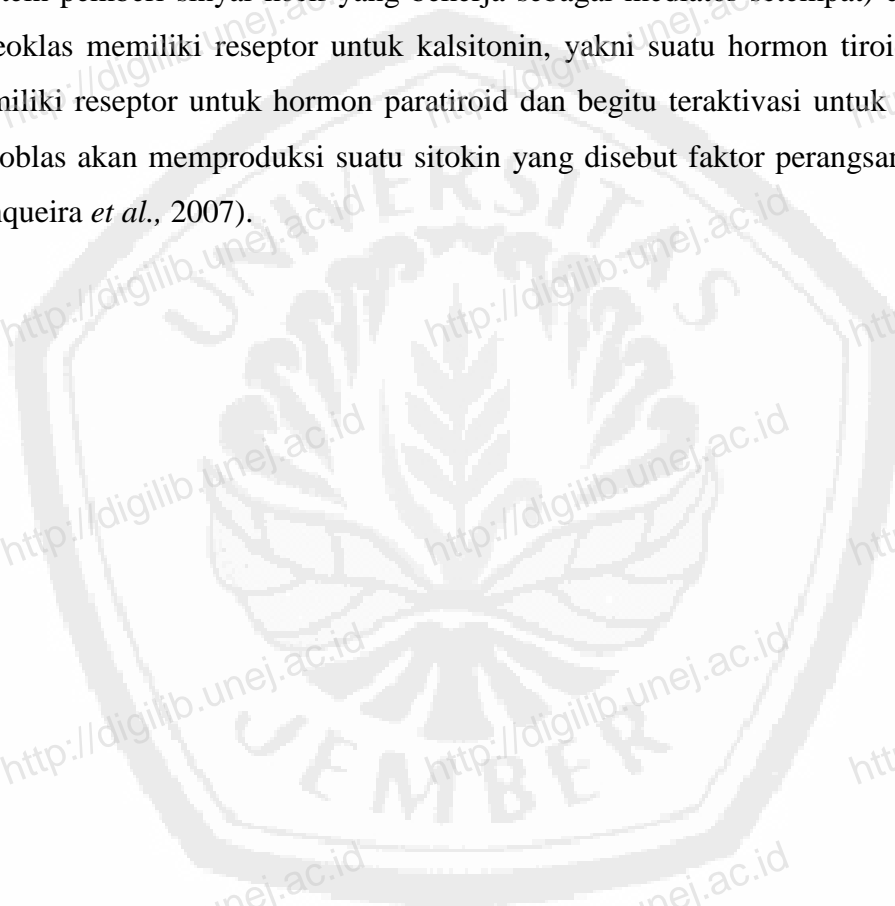
Pada osteoklas yang aktif, matriks tulang yang menghadap permukaan terlipat secara tak teratur, seringkali berupa tonjolan yang terbagi lagi, dan berbentuk batas “bergelombang”. Batas bergelombang ini dikelilingi oleh zona sitoplasma (zona terang) yang tidak mengandung organel, namun kaya akan filamen aktin. Zona ini adalah tempat adhesi osteoklas pada matriks tulang dan menciptakan lingkungan mikro tempat terjadinya resorpsi tulang (Junqueira *et al.*, 2007).

Pada resorpsi tulang ada dua mekanisme yang saling berkaitan, yaitu pembuangan kalsium dan degradasi matriks kolagen. Kedua kejadian tersebut berlangsung ekstraseluler, yaitu pada permukaan batas antara matriks tulang dan *ruffled border* (permukaan berkerut) dari osteoklas. Proses oleh osteoklas ini akan membentuk celah atau ruang pada tepi tulang yang disebut lakuna (Katsunuma dalam Mustaqimah, 2002).

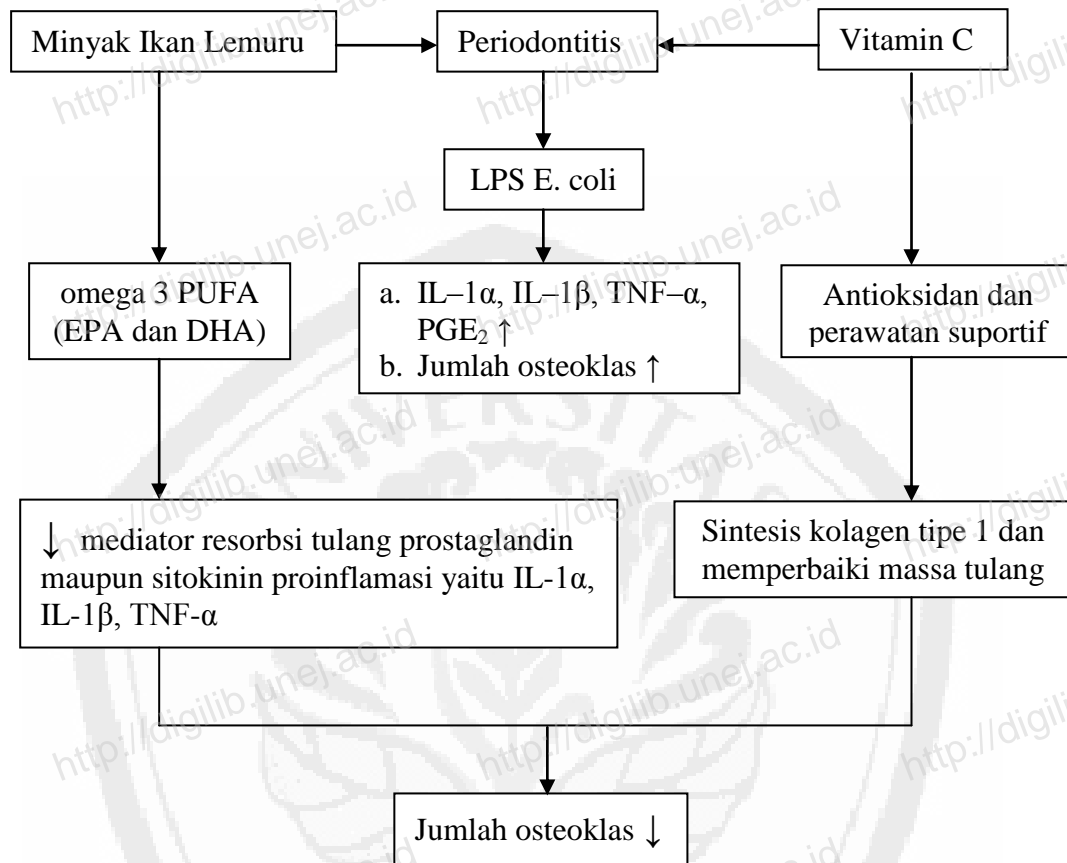
Segera setelah terstimulasi, dalam osteoklas terjadi peningkatan sintesis asam hialuronat, peningkatan pelepasan enzim-enzim lisosom, dan penurunan polarisasi membran sel. Perubahan potensi membran terlihat dengan adanya pembentukan *ruffled border*. Proses awal pengeluaran enzim-enzim lisosom dan suksinat dehidrogenase menyebabkan komponen-komponen non kolagen terlepas dan keluar dari matriks. Asam-asam organik yang disekresikan oleh osteoklas melarutkan mineral tulang. Setelah mineral terlarutkan, baru terjadi degradasi kolagen. Degradasi ini berlangsung karena aktivitas enzim-enzim lisosom, fosfatase acid, protease, dan

kolagenase. Enzim-enzim lisosom mengakibatkan kolagen matur. Secara bersamaan asam hialuronat akan mengikat kalsium (Avioli dalam Mustaqimah, 2002).

Osteoklas mensekresi kolagenase dan enzim lain dan memompa proton ke dalam kantung sub selular, yang memudahkan pencernaan kolagen setempat dan melarutkan kristal garam kalsium. Aktivitas osteoklas dikendalikan oleh sitokin (protein pemberi sinyal kecil yang bekerja sebagai mediator setempat) dan hormon. Osteoklas memiliki reseptor untuk kalsitonin, yakni suatu hormon tiroid, osteoblas memiliki reseptor untuk hormon paratiroid dan begitu teraktivasi untuk hormon ini, osteoblas akan memproduksi suatu sitokin yang disebut faktor perangsang osteoklas (Junqueira *et al.*, 2007).



2.7 Kerangka Konseptual



Gambar 2.3 Skema Alur Konsep yang Mendasari Landasan Teori

2.8 Hipotesis

Minyak ikan lemuru dan vitamin C dapat menurunkan jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami periodontitis.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris (Notoatmodjo, 2005).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian *The Posttest Only Control Group Design*. Dalam rancangan penelitian ini diukur pengaruh perlakuan pada kelompok perlakuan dengan cara membandingkan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2005).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

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

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-April 2012.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian 1 ml/150-200 gr BB minyak ikan lemuru (*Sardinella lemuru*) dan vitamin C uncoated 0,02 mL/gBB/hari.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel osteoklas pada tikus wistar jantan yang diinduksi dengan LPS E. coli.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Galur tikus: wistar jantan, usia 2 bulan, dan berat badan \pm 150-200 gram dengan kondisi sehat.
- b. Makanan standart tikus: Pokpand.
- c. Jenis LPS: LPS *E.coli* (Sigma).
- d. Minyak ikan lemuru: diperoleh dari minyak ikan limbah lemuru secara tradisional dari Muncar, Banyuwangi.

3.5 Definisi Operasional Penelitian

3.5.1 Minyak Ikan Lemuru

Minyak ikan lemuru, merupakan lemak yang berbentuk cair, berasal dari limbah ikan lemuru (*Sardinella longiceps*), yang diolah secara tradisional oleh para nelayan di daerah Muncar, Banyuwangi.

3.5.2 Vitamin C

Vitamin C uncoated yang berupa bubuk berwarna putih. Kemudian vitamin C uncoated dilarutkan dengan aquadest, dan dilakukan pemberian larutan vitamin C secara peroral pada tikus wistar jantan dengan takaran 0,02 ml/g BB tikus.

3.5.3 Osteoklas

Osteoklas yaitu sel raksasa berinti banyak yang besar dan jumlah anak inti yang bervariasi, terdapat dekat pada permukaan tulang, seringkali dalam lekukan dangkal yang dikenal sebagai *Lakuna Howship*. Banyaknya osteoklas yang terdapat diseluruh lapang pandang jaringan dalam sediaan histologi. Jumlah osteoklas ditentukan dengan menghitung jumlah rata-rata sel osteoklas dari tiga potongan jaringan tiap preparat.

3.6 Populasi dan Sampel Penelitian

3.6.1 Populasi Penelitian

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

3.6.2 Kriteria Sampel

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

- a. Berat badan 150-200 gram.
- b. Umur 2 bulan.
- c. Keadaan sehat.

3.6.3 Sampel penelitian

a. Jumlah Sampel

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

$$(n-1)(t-1) > 15 \qquad n > \{15:(t-1)\}+1$$

Keterangan:

n = besar sampel

t = besar kelompok sampel

Perhitungan:

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

$$n > \{15:(10-1)\}+1$$

$$n > \{15: 9\}+1$$

$$n > 1,67 +1$$

$$n > 2,67 \approx n > 3$$

Dari perhitungan diperoleh besar sampel tiap kelompok perlakuan 6 ekor.

Penelitian ini dilakukan pada 5 kelompok perlakuan, tiap kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor, sehingga didapatkan total sampel sejumlah 30 ekor.

b. Sampel

Pengelompokan sampel sebagai berikut:

- 1) Kelompok 1: diinduksi saline sebagai kontrol negatif.
- 2) Kelompok 2: diinduksi LPS sebagai kontrol positif.
- 3) Kelompok 3: diinduksi LPS dan minyak ikan sebagai perlakuan.
- 4) Kelompok 4: diinduksi LPS dan vitamin C sebagai perlakuan.
- 5) Kelompok 5: diinduksi LPS, minyak ikan dan vitamin C sebagai perlakuan.

3.7 Konversi Dosis

a. Perhitungan dosis minyak ikan

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

b. Perhitungan dosis LPS

5 μ g LPS/0,05 ml PBS (Indahyani, 2007)

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:

$$= 0,018 \times 60$$

$$= 1,08 \text{ mg}/200 \text{ gr BB/hari (Wattimena dan Widiyanto, 1993)}$$

d. Pembuatan larutan vitamin C

Takaran peroral = 0,02 ml/gBB

$$200 \text{ gr} \approx 1,08 \text{ mg}$$

$$1 \text{ gr} \approx \underline{1,08 \text{ mg}}$$

$$200$$

$$\underline{1,08 \text{ mg}} \approx 0,02 \text{ ml}$$

$$200$$

$$1 \text{ ml} = \underline{1,08} = 0,27$$

Dalam 1 ml aquadest terdapat 0,27 mg vitamin C (Gosh, 1971).

e. Perhitungan Dosis Ketamin

Ketamin (X) = $90/1000 \times$ gram berat badan tikus

Aquadest (Y) = $1/3 X$

Dosis anestesi = $X + Y$ (ml/gr BB)

(Wang, 1998)

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. Tempat minum untuk tikus
- c. Timbangan (*Neraca Ohaus, Germany*)
- d. Timbangan digital
- e. Sarung tangan (*Everglove*) dan masker (*Diapro*)
- f. Sonde lambung dengan diameter kanula 0,5 mm
- g. Mikroskop binokuler (*Leica, USA*)
- h. *Object glass* dan *deck glass*
- i. *Disposable syringe* insulin (1ml) (*Teruno, Japan*)
- j. Masker
- k. Gunting
- l. Pinset ukuran kecil
- m. Alat pengaduk kaca
- n. Kaca
- o. Mikrotom
- p. Timbangan Analitik (*Ohaus, Germany*)
- q. Labu Ukur 100 ml (*Herma*)
- r. Spatula
- s. *Bekker glass* 50 ml (*Pyrex, Japan*)

- t. Pipet
- u. Alat dekap
- v. Tabung ukur 100 ml
- w. *Headlight*
- x. Bunsen
- y. Scapel dan blade

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. *Haematoxylin eosin*
- f. *Xylol*
- g. Alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
- h. Larutan formalin buffer 10%
- i. Parafin
- j. Aquades
- k. Air
- l. *Eter chloride*
- m. Asam format 10%
- n. Gliserin
- o. *meyer egg albumin*
- p. *Entellan*
- q. Minyak emersi
- r. NaCl 5%
- s. Vitamin C uncoated
- t. Kertas saring

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

- a. Menyiapkan kandang tikus wistar lengkap dengan tempat makan dan minum, umur, berat badan, jenis kelamin, strain, lingkungan, diet.
- b. Tikus wistar diadaptasikan dengan kandang di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember selama 7 hari.
- c. Hewan coba diberi makanan standar (Pokpand) dan diberi minum air setiap hari. Hal ini bertujuan untuk memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian dan untuk mengontrol hewan coba (Reeves, *et al.*, 1993).

3.9.2 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba tikus wistar jantan sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 5 kelompok yaitu sebagai berikut:

- a. Kelompok I, merupakan kelompok kontrol negatif yang terdiri dari 3 ekor tikus wistar. Pada kelompok ini tidak diberi LPS *E.coli*, minyak ikan lemuru dan vitamin C. Hanya diberi larutan saline normal (NaCl 0,9%) secara per-oral pada tikus wistar sampai dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.
- b. Kelompok II, merupakan kontrol positif yang terdiri dari 3 tikus wistar. Terlebih dahulu tikus wistar dilakukan anestesi menggunakan ketamin. Kemudian pada tikus wistar diinduksi dengan LPS *E.coli* dengan dosis 5 µg LPS/0,05 ml PBS setiap hari selama 5 hari, dibagian sulkus gingiva diantara bagian distal gigi molar pertama dan bagian mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanan dengan menggunakan syring insulin. Kemudian dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.
- c. Kelompok III, merupakan kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 ekor tikus wistar. Terlebih dahulu tikus wistar dilakukan anestesi menggunakan ketamin. Kemudian pada tikus wistar diinduksi dengan LPS *E.coli* dengan dosis 5 µg LPS/0,05 ml PBS setiap hari selama 5 hari, dibagian sulkus gingiva diantara bagian distal gigi molar pertama dan bagian mesial gigi

molar kedua rahang bawah regio kanan dengan menggunakan syring insulin. Pada hari berikutnya setelah diinduksi LPS, diberi minyak ikan lemuru secara per-oral menggunakan sonde lambung, dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 dan ke-14 dengan dosis 1 ml/150-200 gram berat badan lalu dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.

d. Kelompok IV, merupakan kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 ekor tikus wistar. Terlebih dahulu tikus wistar dilakukan anestesi menggunakan ketamin. Kemudian pada tikus wistar diinduksi dengan LPS *E.coli* dengan dosis 5 µg LPS/0,05 ml PBS setiap hari selama 5 hari, dibagian sulkus gingiva diantara bagian distal gigi molar pertama dan bagian mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanan dengan menggunakan syring insulin. Pada hari berikutnya setelah diinduksi LPS, diberi vitamin C secara per-oral menggunakan sonde lambung, dengan dosis 1,08 mg/200 gram berat badan sampai hari ke-7 dan ke-14 lalu dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.

e. Kelompok V, merupakan kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 ekor tikus wistar. Terlebih dahulu tikus wistar dilakukan anestesi menggunakan ketamin. Kemudian pada tikus wistar diinduksi dengan LPS *E.coli* dengan dosis 5 µg LPS/0,05 ml PBS setiap hari selama 5 hari, dibagian sulkus gingiva diantara bagian distal gigi molar pertama dan bagian mesial gigi molar kedua rahang bawah regio kanandengan menggunakan syring insulin. Pada hari berikutnya setelah diinduksi LPS, diberi minyak ikan lemuru secara per-oral menggunakan sonde lambung, dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 dan ke-14 dengan dosis 1 ml/150-200 gram berat badan. Selain diberi minyak ikan lemuru, tikus wistar diberi vitamin C secara per-oral dengan dosis 1,08 mg/200 gram berat badan sampai hari ke-7 dan ke-14 lalu dikorbankan pada hari ke-7 dan ke-14 secara inhalasi dengan *eter chloride*.

3.9.3 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 format 10% yang dibuat dari asam format sebanyak 10 ml dilarutkan pada aquades steril sebanyak 90 ml. Proses dekalsifikasi ini dilakukan selama 1-3 hari. 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 ± 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° - 60° C, caranya jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sample, kemudian dimasukkan ke dalam bahan embedding yaitu parafin titik didih 56° - 60° 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° - 10° . 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° - 58° C. Potongan tersebut dipindahkan pada *object glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin* dan dikeringkan dengan *hotplate* dengan suhu sekitar 30° - 35° C, minimal selama 12 jam.

3.9.4 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 dehidrasi dengan larutan alkohol 100% dan 95% masing-masing 3 menit sebanyak 2 kali dengan wadah yang berbeda.
- 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 Haematoxilin* 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.

3.9.5 Tahap Perhitungan Jumlah Sel Osteoklas

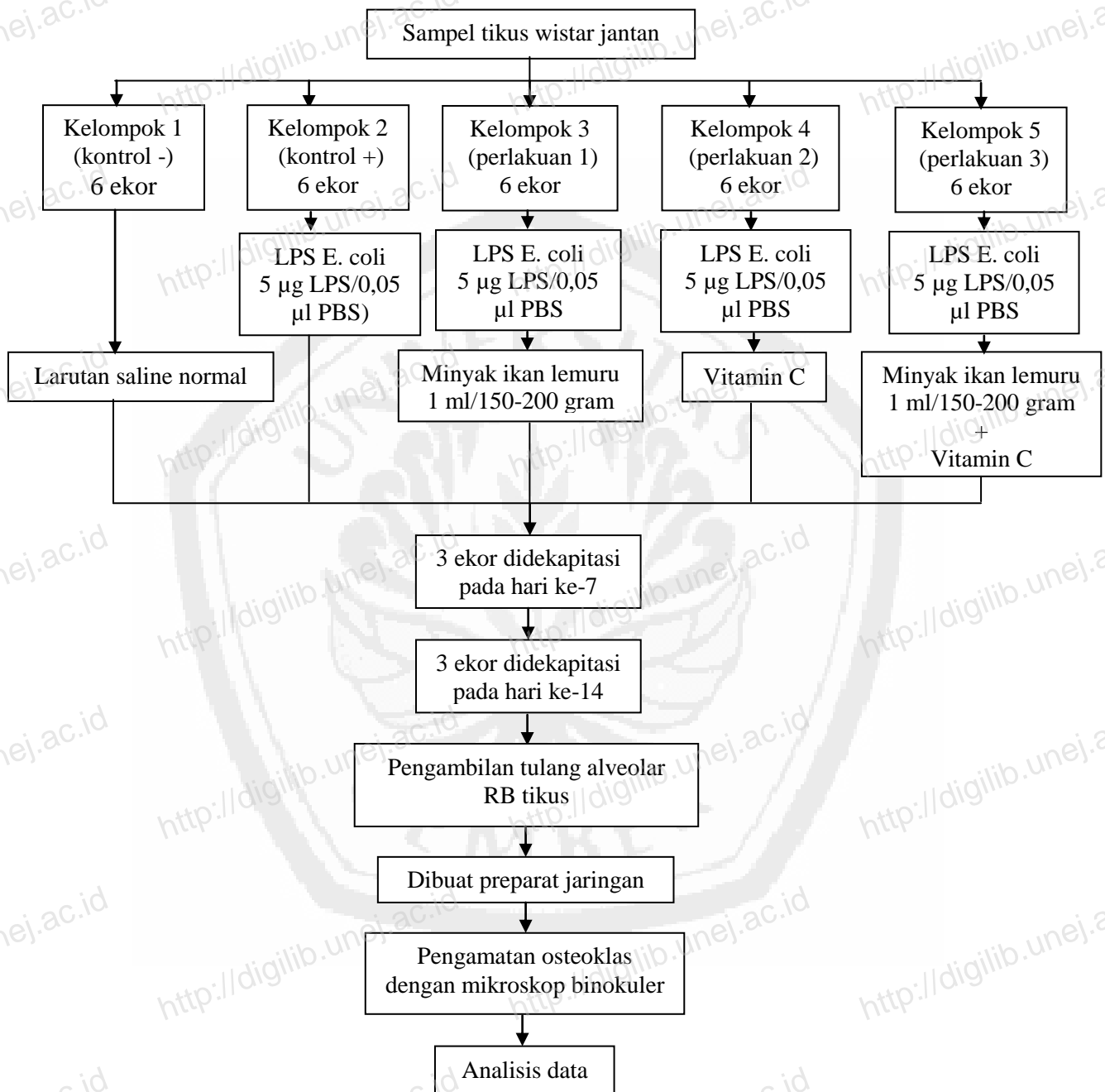
Jumlah sel osteoklas dihitung menggunakan mikroskop binokuler dari preparat yang telah dibuat. Setiap preparat terdiri dari 3 potongan jaringan. Sebelumnya diletakkan satu tetes minyak emersi pada preparat yang akan diamati karena perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 X. Dan diamati

oleh 3 observer agar mendapatkan hasil yang akurat. 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 osteoklas ditentukan dengan menghitung jumlah rata-rata sel osteoklas dari tiga potongan jaringan tiap preparat (Barroukh & Saffar dalam Indahyani, 2001).

3.10 Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ditabulasi. Data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorove-Smirnov* untuk menentukan apakah distribusi keempat kelompok mempunyai bentuk yang normal. Jika didapatkan data berdistribusi secara normal maka dilanjutkan dengan uji homogenitas varian untuk menguji variasi populasi dengan menggunakan uji *Levence*. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *oneway* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Apabila terdapat perbedaan yang nyata ($p<0,05$), dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat lebih lanjut perbedaan antar variabel.

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (Sardinella Lemuru) dan vitamin C terhadap Jumlah Osteoklas Tikus Wistar Jantan dengan Periodontitis Eksperimental.

BAB 4. HASIL DAN ANALISIS DATA

4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop binokuler yang dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, didapatkan rata-rata jumlah osteoklas pada tulang alveolar gigi molar rahang bawah kanan tikus wistar dengan periodontitis eksperimental hari ke 7 dan ke 14 yang terlihat pada tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rata-rata Jumlah Osteoklas pada Kelompok Perlakuan Hari ke 7 dan ke 14

No	H 7	N	x	SD	H 14	N	X	SD
1	I 7	3	7,89	0,51	I 14	3	6,33	1,00
2	II 7	3	8,78	0,84	II 14	3	8,89	3,84
3	III 7	3	5,11	0,51	III 14	3	3,44	0,20
4	IV 7	3	6,33	0,88	IV 14	3	4,89	0,77
5	V 7	3	6,78	0,77	V 14	3	5,44	1,17

Keterangan:

Kelompok 1 : Induksi saline normal (kontrol -)

Kelompok II : Induksi LPS (kontrol +)

Kelompok III : Induksi LPS dan pemberian minyak ikan lemuru

Kelompok IV : Induksi LPS dan pemberian vitamin C

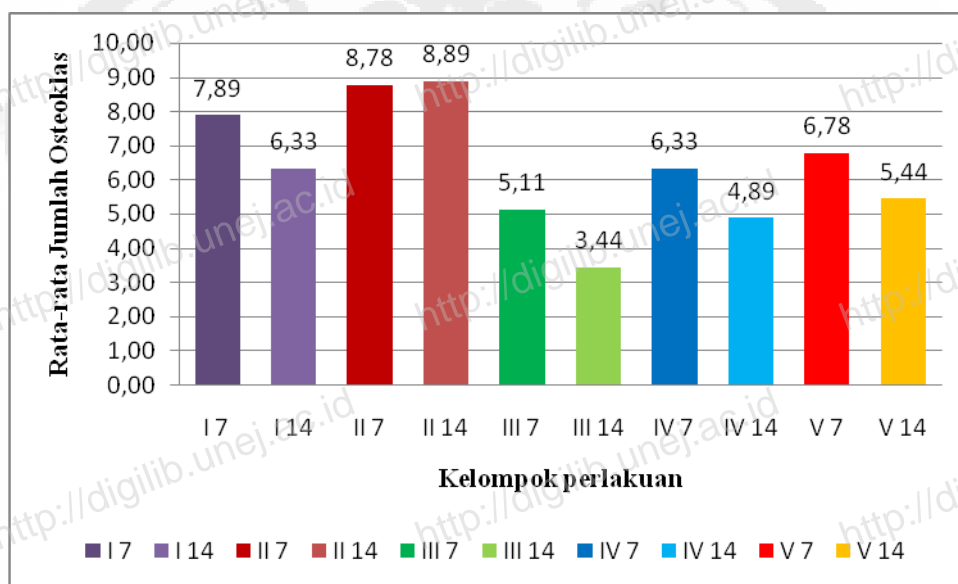
Kelompok V : Induksi LPS, pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin C

X : Rata-rata jumlah osteoklas

SD : Standart Deviasi

Dari data rata-rata jumlah osteoklas pada tabel 4.1 diatas, diperoleh hasil bahwa rata-rata jumlah osteoklas terendah pada hari ke 7 adalah pada kelompok III (diberi perlakuan minyak ikan), sedangkan pada kelompok III hari ke 14 yang mengalami penurunan rata-rata jumlah osteoklas. Pada kelompok IV (diberi perlakuan vitamin C) rata-rata jumlah osteoklas lebih banyak dibandingkan dengan kelompok III pada perlakuan hari ke 7, sedangkan pada hari ke 14 kelompok IV mengalami penurunan

rata-rata jumlah osteoklas. Pada kelompok V (diberi perlakuan minyak ikan dan vitamin C) rata-rata jumlah osteoklas lebih banyak dibandingkan kelompok III dan kelompok IV pada hari ke 7, sedangkan pada hari ke 14 kelompok V mengalami penurunan rata-rata jumlah osteoklas. Pada kelompok I (kontrol -) rata-rata jumlah osteoklas banyak dibandingkan kelompok III, kelompok IV, kelompok V pada perlakuan hari ke 7, sedangkan pada hari ke 14 kelompok I mengalami penurunan rata-rata jumlah osteoklas. Pada kelompok II (kontrol +) memiliki rata-rata jumlah osteoklas yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok yang lain pada hari ke 7, sedangkan pada ke 14 kelompok II mengalami kenaikan rata-rata jumlah osteoklas.



Gambar 4.1 Grafik Rata-rata Jumlah Osteoklas pada Kelompok Perlakuan Hari ke 7 dan Hari ke 14

Keterangan:

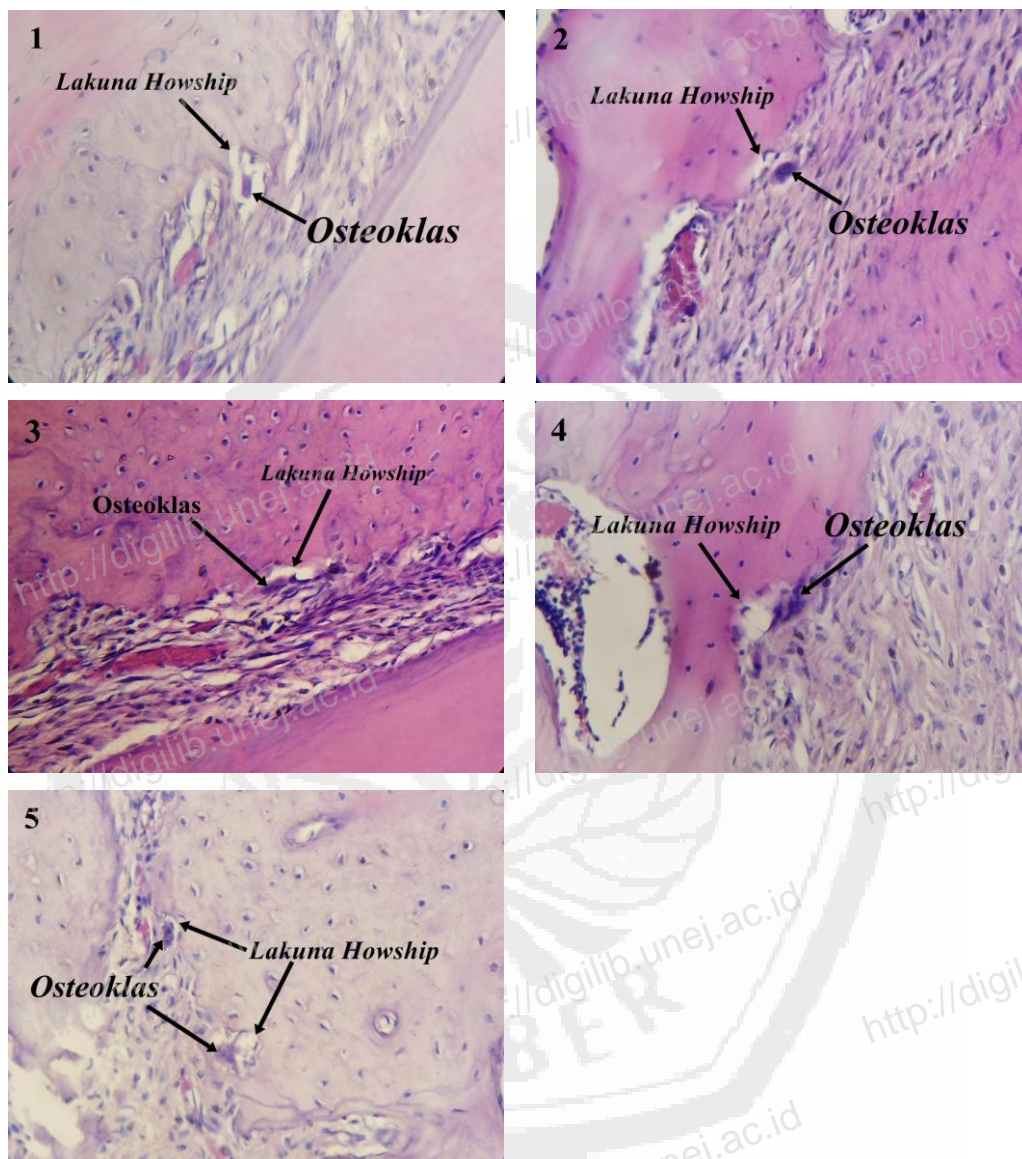
Kelompok I : Induksi saline normal (kontrol -)

Kelompok II : Induksi LPS (kontrol +)

Kelompok III : Induksi LPS dan pemberian minyak ikan lemuru

Kelompok IV : Induksi LPS dan pemberian vitamin C

Kelompok V : Induksi LPS, pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin C



Gambar 4.2 Osteoblas pada tulang alveolar pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-7 dengan perbesaran 400x dengan pewarnaan HE

Keterangan:

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 vitamin C hari ke-7

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

4.2 Analisa Data

Data hasil penelitian terlebih dahulu diuji menggunakan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas yang digunakan adalah uji *Kolmogorov-Smornov*, sedangkan uji homogenitas yang digunakan adalah uji *Levene*, keduanya menggunakan tingkat kesalahan (α) 0,05.

Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas pada Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoklas

	Perlakuan hari ke 7					Perlakuan Hari ke 14				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Kolmogrov-smirnov Z	0,441	0,379	0,441	0,545	0,667	0,303	0,308	0,667	0,667	0,335
Asymp.sig.(2-tailed)	0,990	0,999	0,990	0,928	0,766	1,000	1,000	0,766	0,766	1,000

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai signifikansi rata-rata jumlah osteoklas pada kelompok I, II, III, IV, V pada perlakuan hari ke 7 dan hari ke 14 lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), ini berarti data penelitian yang diperoleh berdistribusi normal.

Tabel 4.3 Hasil Uji Homogenitas pada Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoklas

	df1	df2	Sig.
Levene Statistic	9	20	0,54

Hasil uji homogenitas pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai probabilitas pada perhitungan rata-rata jumlah osteoklas adalah 0,54 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data penelitian tersebut bersifat homogen.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa semua data penelitian mempunyai distribusi yang normal ($p > 0,05$). Demikian juga hasil homogenitas yang menunjukkan bahwa data dari kedua kelompok penelitian adalah homogen ($p > 0,05$). Dengan demikian semua data hasil penelitian ini dapat dilakukan analisis menggunakan uji parametrik yaitu *One way Anova*.

Tabel 4.4 Hasil Uji *One way Anova* terhadap Rata-rata Jumlah Osteoklas

	Sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.
Beetwen groups	83,482	9	9,276	4,565	0,002
Within groups	40,639	20	2,032		
Total	124,121	29			

Berdasarkan hasil *One way Anova* pada tabel 4.4 di atas diperoleh $p=0,002$ ($p<0,05$) dalam hal ini terdapat perbedaan dari kelompok penelitian. Untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok maka dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji beda LSD.

Tabel 4.5 Ringkasan Signifikansi Uji Beda LSD terhadap Rata-rata Jumlah Osteoklas

Kelompok	I 7	II 7	III 7	IV 7	V 7	I 14	II 14	III 14	IV 14	V 14
I 7	-	0,507	0,169	0,680	0,870	0,458	0,457	*0,003	0,254	0,326
II 7	0,507	-	*0,048	0,287	0,410	0,168	0,935	*0,001	0,079	0,108
III 7	0,169	*0,048	-	0,326	0,222	0,510	*0,041	0,068	0,804	0,680
IV 7	0,680	0,287	0,326	-	0,804	0,739	0,253	*0,008	0,458	0,562
V 7	0,870	0,410	0,222	0,804	-	0,562	0,366	*0,005	0,326	0,410
I 14	0,458	0,168	0,510	0,736	0,562	-	0,146	*0,017	0,680	0,804
II 14	0,457	0,935	*0,041	0,253	0,366	0,146	-	*0,001	0,068	0,093
III 14	*0,003	*0,001	0,068	*0,008	*0,005	*0,017	*0,001	-	*0,041	*0,029
IV 14	0,254	0,079	0,804	0,458	0,326	0,680	0,068	*0,041	-	0,870
V 14	0,326	0,108	0,680	0,562	0,410	0,804	0,093	*0,029	0,870	-

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

Tabel 4.5 yang menunjukkan hasil uji LSD rata-rata jumlah osteoklas antara kelompok perlakuan, pada kelompok I 7 dengan kelompok III 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,003 ($p>0,05$), pada kelompok II 7 dengan kelompok III 7 menunjukkan probabilitas sebesar 0,048 ($p>0,05$), pada kelompok II 7 dengan kelompok III 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,001 ($p>0,05$), pada kelompok III 7 dengan kelompok II 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,041 ($p>0,05$), pada kelompok IV 7 dengan kelompok III 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,008 ($p>0,05$), pada kelompok V 7 dengan kelompok III 14 menunjukkan probabilitas

sebesar 0,005 ($p > 0,05$), pada kelompok I 14 dengan kelompok III 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,017 ($p > 0,05$), pada kelompok II 14 dengan kelompok III 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,001 ($p > 0,05$), pada kelompok III 14 dengan kelompok IV 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,041 ($p > 0,05$), pada kelompok III 14 dengan kelompok V 14 menunjukkan probabilitas sebesar 0,029 ($p > 0,05$), artinya terdapat perbedaan signifikan rata-rata jumlah osteoklas.

4.3 Pembahasan

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. Penelitian ini dibagi menjadi dua kelompok perlakuan pada hari ke 7 dan hari ke 14. Masing-masing kelompok dibagi menjadi lima sub kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (diinduksi salin), kontrol positif (diinduksi LPS), kelompok perlakuan I (diinduksi LPS dan minyak ikan), kelompok perlakuan II (diinduksi LPS dan vitamin C), dan kelompok perlakuan III (diinduksi LPS, minyak ikan dan vitamin C).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan jumlah osteoklas dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, pemberian minyak ikan lemuru, pemberian vitamin C dan pemberian minyak ikan lemuru yang dicampur vitamin C, selanjutnya dianalisa dengan uji statistik *oneway* Anova. Dari hasil uji Anova didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa minyak ikan dan vitamin C mempengaruhi jumlah osteoklas.

Pada kelompok kontrol negatif yang diberi saline normal dengan menggunakan sonde lambung pada tikus wistar jantan ini menunjukkan rata-rata osteoklas jumlah lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang diinduksi LPS. Hal ini dikarenakan kondisi tikus yang kurang baik. Kondisi ini dapat disebabkan oleh makanan tikus yang tidak bersih, 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. Namun bakteri patogen yang menyerang tulang alveolar antara distal gigi M1 dan mesial M2 berjumlah sedikit sehingga peradangan yang ditimbulkan lebih ringan dibandingkan dengan peradangan dihasilkan oleh LPS *E. coli* yang diinduksikan pada daerah tersebut. Keadaan dimana jumlah osteoklas seharusnya normal menjadi lebih banyak karena bakteri normal yang menjadi patogen dalam rongga mulut menjadi faktor terjadinya sintesis mediator proinflamatori yaitu sitokin dan prostaglandin yang dapat menstimulasi pembentukan osteoklas.

Rata-rata jumlah osteoklas kelompok kontrol positif paling besar diantara kelompok lainnya pada perlakuan hari ke 7 dan meningkat rata-rata jumlah osteoklas pada perlakuan hari ke 14. Hal ini menunjukkan bahwa induksi LPS mengakibatkan stimulasi sel osteoklas. LPS bersifat endotoksin yang menginduksi diproduksinya faktor lokal yaitu sitokin proinflamatori seperti IL-1 α , IL-1 β , IL-6, serta TNF- α dan eikosanoid yaitu prostaglandin (PGE₂) (Stanshenko, 2002). Prostaglandin dan sitokin proinflamatori mengakibatkan destruksi jaringan periodontium, dengan cara menstimulasi pembentukan dan peningkatan aktivitas osteoklas (Schwartz, dkk., 1997; Ne, dkk., 1999).

Rata-rata jumlah osteoklas kelompok kontrol positif lebih banyak dibandingkan dengan rata-rata jumlah osteoklas kelompok perlakuan I, II dan III. Kelompok-kelompok tersebut berbeda makna dengan kelompok kontrol negatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata jumlah osteoklas pada kelompok yang perlakuan I lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang lain pada perlakuan hari ke 7, dan mengalami penurunan rata-rata jumlah osteoklas pada perlakuan hari ke 14. Hal ini sesuai dengan teori bahwa minyak ikan lemuru menghambat pembentukan osteoklas pada tulang alveolar yang distimulasi oleh LPS. Minyak ikan merupakan jenis nutrisi yang secara progresif menurunkan produksi prostaglandin E₂ (PGE₂) (Meydani dan Dinarello, 1993) dan produksi sitokin (IL-1, IL-6, serta TNF- α) (Salari, dkk., 2008) karena struktur jaringan AA (asam arakidonat) yang diganti dengan EPA sebagai antagonis asam arakidonat. Dalam struktur kimia, EPA merupakan asam karboksilat

dengan 20 – rantai karbon dan lima cis ikatan ganda, ikatan rangkap pertama terletak pada karbon ketiga dari ujung omega. EPA yang bertindak dalam tubuh sebagian besar berinteraksi dengan metabolit asam arakidonat. EPA adalah polyunsaturated asam lemak (PUFA) yang bertindak sebagai prekursor untuk prostaglandin-3 (yang menghambat platelet agregasi), tromboksan-3, dan leukotrien-5 yang bersifat anti inflamasi (Winarno, 2002). Pergantian ini dapat menghasilkan penurunan pelepasan signal proinflamatori sehingga terjadi penurunan produksi sitokin (Korver dan Klasing, 1997). Berdasarkan penelitian, pemberian minyak ikan lemuru dapat menurunkan jumlah aktivitas sel osteoklas (Indahyani, 2001).

Lama waktu pemberian minyak ikan mempengaruhi rata-rata jumlah osteoklas. Hal ini terjadi karena pada 1 hari setelah dilakukan induksi LPS pemberian minyak ikan terus dilanjutkan sehingga telah terjadi pergantian struktur AA dengan DHA dalam jaringan. Setelah hari ke 14 DHA dan EPA yang terdapat dalam minyak ikan telah mengganti struktur AA dalam jaringan lebih banyak, sehingga osteoklas tidak terbentuk (Indahyani, 2003).

Pada rata-rata jumlah osteoklas kelompok perlakuan II lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan I pada hari ke 7, tetapi perlakuan hari ke 14 rata-rata jumlah osteoklas kelompok perlakuan II mengalami penurunan. Hal ini diketahui bahwa fungsi vitamin C sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Radikal bebas dapat menghambat perbaikan tulang. Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain (Winarsi, 2007). Selain itu, vitamin C juga berperan mensintesis matriks kolagen tipe 1 sehingga mempercepat proses perbaikan jaringan yang mati atau rusak dengan jaringan baru (Harijanti, 1996). Dalam proses hidroksilasi yang melibatkan reaksi pertukaran kelompok hidroksil, OH, dengan atom hidrogen, dari prolin residu pada rantai polipeptida membutuhkan vitamin C. Satu molekul dari vitamin C dipecah untuk setiap H yang digantikan OH, sehingga akan terbentuk kolagen (Maryana, 2004). Vitamin C akan merangsang sintesis kolagen tipe I, aktivitas alkaline

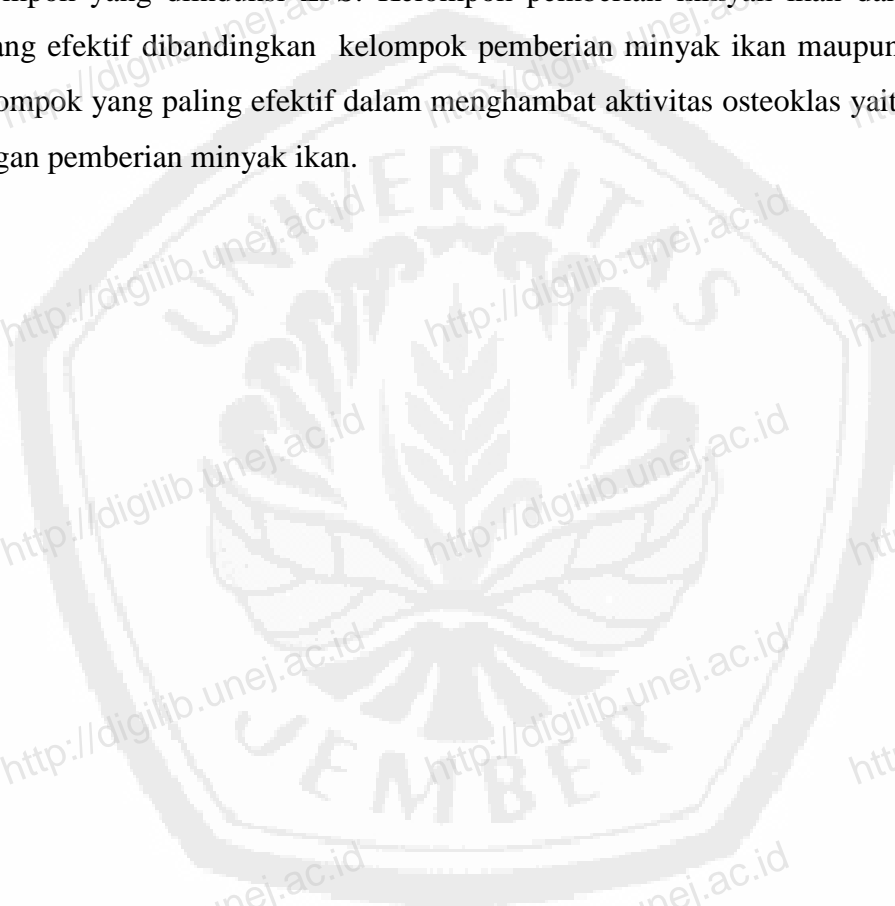
phosphatase, akumulasi osteocalcin dan mineralisasi matriks pada osteoblas (Harijanti, 1996). Vitamin C juga membantu absorpsi kalsium dengan menjaga agar kalsium berada dalam bentuk larutan (Ganiswarna *et al.*, 2001). Vitamin C dapat mempertahankan massa tulang dengan merangsang pembentukan osteoblas yang membentuk tulang baru dan menekan osteoklas dalam meresorpsi tulang (Huston, 2010).

Rata-rata jumlah osteoklas pada kelompok pemberian vitamin C lebih banyak dibandingkan dengan kelompok pemberian minyak ikan. Ini karena minyak ikan mengandung omega-3 dapat menurunkan produksi prostaglandin E_2 (PGE_2) (Meydani dan Dinarello, 1993) dan produksi sitokin (IL-1, IL-6, serta $TNF-\alpha$) (Salari, dkk., 2008), bermanfaat untuk terapi inflamasi akut maupun kronis sehingga dapat menurunkan jumlah aktivitas sel osteoklas (Indahyani, 2001). Sedangkan peranan vitamin C untuk perawatan suportif yaitu pembentukan kolagen tipe I dan absorpsi kalsium yang merangsang proliferasi osteoblas dalam membentuk tulang baru dan menekan osteoklas dalam meresorpsi tulang (Huston, 2010).

Pada rata-rata jumlah osteoklas kelompok perlakuan III lebih sedikit dibandingkan dengan rata-rata jumlah osteoklas kelompok kontrol positif. Namun kelompok perlakuan III lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan I ataupun kelompok perlakuan II pada perlakuan hari ke 7, tetapi perlakuan hari ke 14 rata-rata jumlah osteoklas kelompok perlakuan III mengalami penurunan. Hal ini membuktikan bahwa dengan terapi pemberian minyak ikan lemuru ditambah vitamin C dapat menghambat jumlah osteoklas namun tidak lebih efektif dibandingkan dengan pemberian minyak ikan saja maupun pemberian vitamin C saja. Vitamin C merupakan senyawa yang larut pada air, tetapi tidak dapat larut dalam minyak. Minyak ikan dan vitamin C berbeda massa jenis dan adanya perbedaan absorpsi di usus halus antara minyak ikan lemuru dan vitamin C. Jika minyak ikan lemuru dalam absorpsi membutuhkan enzim empedu sedangkan vitamin C tidak membutuhkan zat lain dari tubuh. Hal ini mengakibatkan metabolisme di usus halus tidak sempurna

sehingga penyerapan pada usus halus menjadi kurang baik. (Andarwulan, dkk., 1992).

Terdapat pengaruh pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin C terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata jumlah osteoklas lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi LPS. Kelompok pemberian minyak ikan dan vitamin C kurang efektif dibandingkan kelompok pemberian minyak ikan maupun vitamin C. Kelompok yang paling efektif dalam menghambat aktivitas osteoklas yaitu kelompok dengan pemberian minyak ikan.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak ikan lemuru dan vitamin C dapat menurunkan jumlah osteoklas pada tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis.

5.2 Saran

5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan minyak ikan varietas lain terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis.

5.2.2 Sebelum melakukan penelitian selanjutnya diharapkan uji kandungan EPA dan DHA minyak ikan lemuru terlebih dahulu untuk hasil yang lebih akurat.

5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian minyak ikan dan antioksidan lain terhadap jumlah osteoklas pada tikus wistar yang mengalami periodontitis.

DAFTAR BACAAN

- Almatsier, S. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Andarwulan, N., Koswara, S. 1992. *Kimia Vitamin*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Anonimous. 2002. Masalah Jalur Migrasi Musim Ikan di Perairan Lut Jawa Timur (Jalur Migrasi Ikan Lemuru di Perairan Selat Bali). *Jurnal Litbang Jawa Timur*. 1 (1): 50-56.
- Arifin, H., Delvita, V. 2007. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Fetus pada Mencit Diabetes. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* 12 (1): 32-40.
- Atun, S. 2007. Hubungan Struktur dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Senyawa Resveratrol dan Turunannya. Laporan Penelitian, FMIPA, 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. [2 April 2012].
- Belleville-Nabet, F. 1996. zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan dalam Sistem Biologis. Dalam *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: Reaksi BIOMOLEKULAR, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan*. CFNS-IPB dan Kedutaan Besar Perancis-Jakarta.
- Breivik, T., Rook, G. A. W. 2000. Prevacination with SRL 172 (Heat-Killed *Mycobacterium vaccae*) Inhibits Eksperimental Periodontal Disease in Wistar Rats. *The J. Trans. Immunol.* 120(3): 463-467
- Carr, A. C., Zhu, B. Z., Frei. 2000. Potential antiatherogenic mechanism of ascorbate (vitamin C) and α -tokoferol (vitamin E). *Circul Resp.* 87: 349-54.
- Catalog of Fishes. 2004. Omega-3 Fatty Acids. *Am Fam Physician.* 70 (1):133-140.
- Carranza, F., Newman., Takei H., Klokkevold, P. 2006. *Clinical Periodontology*. 10th edition. Philadelphia: WB Saunders.
- Cormack, D. H. 1994. *HAM Histologi ed 9*. Jakarta: Binarupa Aksara.

- 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*. 328: 30-35.
- Dewi, E. N. 1996. *Isolasi Asam Lemak Omega-3 dari Minyak Hasil Limbah Penepungan dan Pengalengan Ikan Lemuru (Sardinelle longisepts)*. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Djais, A. I. 2006. Periodontitis sebagai Faktor Resiko Jantung Koroner Arteriosklerosis. *Jurnal PDGI*. 56(2): 53-59.
- Dorland. 1998. Dorland Pocket Medical Dictionary. Diterjemahkan Kumala, P. *et al. Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Edisi 25. Jakarta: EGC.
- Erna, S. 2002. *Peningkatan Apoptosis dan Ekspresi p 53 pada Sel Asinar Keenjar Parotis sebagai Dasar Patogenesis Xerostomia pada Terapi Radiasi, Penelitian Eksperimental pada Mencit BALB/Jantan*. Tesis. Surabaya: UNAIR.
- Fitria, E. 2006. Kadar IL-1B dan IL-8 sebagai Penanda Periodontitis, Faktoe Resiko Kelahiran Prematur. *Jurnal PDGI*. 56 (2): 60-64.
- Friedman, A., Moe, S. 2006. Review of Effect of Omega-3 Supplementation in Dialysis Patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 1: 182-192.
- Ganiswara, S. G., Rianto, S., Frans, D. S., Purwastyastuti, Nafrialdi. 2001. *Farmakologi dan Terapi ed. 4*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gosh, S. 1971. *Fundamental of Experimental Pharmacology*. Calcutta: Scientific Book Agency.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Cetakan I. Jakarta: EGC.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Hanafiah, K. A. 2005. *Rancangan Percobaan Aplikatif, ed-3*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Haniastuti, T. 2003. Peran Prostaglandin E₂ dalam Destruksi Tulang Alveolar pada Penyakit Periodontal. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. 10 (2): 16-20.

- Harijanti, K. 1996. Peranan Vitamin C dalam Kesehatan Jaringan Lunak Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran Gigi* vol 29 no 3. Surabaya: Universitas Airlangga. Hal 59-62.
- Harli, M. 1999. Omega-3 Modal untuk Kecerdasan. [serial on line]. <http://www.balita-anda.com/fatherhood/211-omega-3-modal-untuk-kecerdasan.html> [1 Maret 2011].
- Harmayani, E., Utami, T., Hastuti, P., Jenny. 2000. Hidrolisis Minyak Ikan Lemuru oleh Lipase Amobil dari *Mucor miehei* pada Berbagai Rasio Minyak dan Air. *Seminar Nasional Industri Pangan Tahun 2000*. Yogyakarta: FATETA UGM.
- Huston, 2010. Vitamin C protects, maintains healthy bone mass. [serial on line]. <http://www.bcm.edu/news/item.cfm?newsID=2218>. [29 Februari 2011].
- Indahyani, D. E. 2001. Mekanisme Minyak Ikan dalam Menghambat Proses Inflamasi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dent.J.)*. 34(3a): 224-228.
- Indahyani, D. E. 2001. *Pengaruh Minyak Ikan terhadap Jumlah dan Aktivitas Osteoklas Tulang Periapikal Tikus yang Terinduksi Infeksi pada Pulpa*. Tidak Dipublikasikan. Tesis. Yogyakarta: Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada.
- Indahyani, D. E. 2003. Potensi Minyak Ikan Mencegah dan Mengobati Rheumatoid Arthritis. *Stomatognati*. I (1): 1-4.
- Indahyani, D. E., Putyani, P. S., Santoso, A. L. S., Jonarta, A. L., Sosroseno, W. 2002. The Effect of Fish Oil on Bone Resorption Following Pulp Exposure in Rats. *Dent Traumatol*. 18: 206-211.
- Indahyani, D. E., Santoso, A. L. S., Utoro, T., Soesatyo M. H. 2007. Lypopolysaccharide (LPS) introduction during growth and development period of rat's tooth toward the occurrence of enamel hypoplasia. *Dent J (Maj Ked Gigi) FKG Unair*. 40 (2): 85-88.
- Indahyani, D. E. 2008. Pengaruh Pemberian Minyak Ikan terhadap Proses Erupsi Gigi dengan Infeksi Tulang Alveolaris pada Tikus yang D iinduksi Lipopolisakarida (LPS) (*kajian pada ekspresi bone sialoprotein, osteopontin dan face erupsi gigi*), *Disertasi*, Universitas Gadjahmada.

- Indirawati. 2002. *Upaya Peningkatan Status Kesehatan Gigi dan Mulut Sesuai Kebutuhan Masyarakat Setempat*. <http://digilib.ekologi.litbang.depkes.go.id/go.php?node=18> [23 November 2007].
- Junqueira, L. C. and Carneiro, J. 2007. *Histologi Dasar Teks & Atlas*. Jakarta: EGC
- Kimura, S., Peristiwady, T., Suharti, S. R. 2007. Fishes of Bitung. http://research.kahaku.go.jp/zoology/fishes_of_bitung/index.html. [27 November 2007].
- Kindersley, D. *Fish Oil*. <http://www.dkimages/discover/Home/Health and Beauty/Drugs and Medicines/Medicine/Tablets/Vitamins and Minerals.indeks/html>. [5 Desember 2007].
- Korver, D. R., Klasing, K. C. 1997. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune responses in chicks. *J. Nutr.* 127:2039–2046.
- Latham, P. 2007. *Inflammation-an overvie*. <http://www.toxicology.org/isot/rc/ncac/symposia/iles/spring2007Latham.pdf>. [26 November 2007].
- Lakio, L., Paju, S., Alfthan, G., Tiirola, T., Asikainen, S., Pussinen, P. J. 2003. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Serrotype d-Spesific Antigen Contains the O Antigen of Lipopolysaccharide. *Infect Immun.* 71(9): 5005-5011.
- Larsen, H. R. 2005. Fish Oil: The Essensial Nutrients. [serial on line]. <http://www.yourhealthbase.com>. [18 November 2009].
- Leeson, P. 1996. *Buku Ajar Histologi, Edisi V*. Jakarta: EGC.
- Levine, M, Dhariwal, K. R., Welch, R. W., Wang, Y., Park J. B. 1995. Determination of Optimal Vitamin C Requirements in Humans. *The WA MERICAN Journal of Clinical Nutrition.* 62(Suppl) 1347S-1356S.
- Maryana, T. 2004. *Pengaruh pemberian Gel Lidah Buaya (Aloe Vera) Per Oral Terhadap Jumlah Osteoblas pada Tikus Galur Wistar Jantan Pasca Pencabutan Gigi*. Skripsi. Jember. FKG UNEJ.
- Merta, I. G. S., Widana, K., Yunizar, Basuki, R. 2000. *Status of The Lemuru Fishery in Bali Strain its Development an Prospects*. Workshop on the fishery an managemen os Bali Sardinella (*Sardinella lemuru*) in Bali Strait. Roma: FAO.

- Meydani, S. N., Endres, S., Woods, C. A., and Gorbach, S. L. 1991. Oral (n-3) Fatty Acid Supplementation Suppresses Cytokine Production and Lymphocyte Proliferation: Comparison Between Young and Older Women. *J Nutr.* 121: 547-555.
- Meydani, S. N., Dinarello, C. A. 1993. Influence of Dietary Fatty Acids on Cytokine Production and its Clinical Implications. *Nurt Clin Pract.* 8: 65-72.
- Mustaqimah, D. 2002. Faktor-faktor Penyebab serta Mekanisme Perusakan Tulang Alveolar oleh Osteoklas. *Jurnal PDGI.* Edisi Khusus 52 (8): 57-61.
- Ne, R. F., Witherspoon, D. E., Gutmann, J.L. 1999. Tooth Resorption, Quintessence Int. 30:9-25.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan.* Jakarta: Rineka Cipta.
- Oh, R. 2005. Practical Application of Fish Oil (ω -3 Fatty Acid) in Primary Care. *J Am Board Fam Pract.* 18:28-36.
- Peck, M. D. 1994. Interaction of Lipids with Immune Function I: Biochemical Affect of Dietary Lipids on Plasma Membranes. *J Nutr Biochem.* 5: 466-478.
- Permadi, E. 2003. *Analisis Pengembangan Industri Pengolahan Mikroenkapsulasi Minyak Ikan.* Bogor :Institut Pertanian Bogor.
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., Fahey, G. C. 1993. AIN 93 Purified Diets For Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Communitte of the Reformulation of the AIN-76 A Rodents Diet. *J Nutr.* 123 : 1939-1951.
- 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 Sycemic Review of Impact of n-3 Fatty Acid in Bone Health and Osteoporosis. *Med Sci Monit.* 14 (3): 37-44.
- Sasmito, B. B., Sumardi, J. A., Suparno. 1996. *Perubahan Asam Lemak Esensial, EPA dan DHA pada Pengeringan Ikan Lemuru (Sardinella longisepts).* Seminar Nasional Pangan dan Gizi Kongres PATPI, Yogyakarta: UGM.

- Sheldon dan Sommers, M. D. 1995. *Manual for Histologic Technicians*. London: J. A Churchil Ltd.
- Schwartz, Z., Goultschin, J., Dean D. D., Byan, B. D. 1997. Mechanisms of Alveolar Bone Destruction in Periodontitis. The Pathogenesis of Periodontitis, Hubert E Schroeder (eds). *Periodontology 2000*. 14: 158-172.
- Simopoulos, A. P. 2000. Symposium: Role of Poultry Product in Enriching the Human Diet With n-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Poul. Sci.* 79: 961-97.
- Stanshenko, P. 2002. *Interrelationship of Dental Pulp and Apical Periodontitis*. Dental Pulpa. Inc. Chicago: Quintessence Publishing Co.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suhartono E, Fachir, H., Setiawan, B. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin: Pustaka Benua.
- Takada, T. 2004. Effect of Restrain Stress on The Progression of Experimental Periodontitis in Rats. *Journal of Periodontology*. 75 (2): 306-315.
- Walkins, B. A., Shen, C. L., Allen, K. G. D., Sweifert, M. F. 1996. Dietary (n-3) and (n-6) Polyunsaturated and Acetylsalicylic Acid Alter ex vivo PG2 Biosynthesis, Tissue IGF-1 Level, and Bone Morphometry in Chicks. *J Bone Res.* 11: 1321-1332.
- Walkins, B. A., Li, Y., Allen, K. G. D., Hopffmann, W. E., Seifert, M. F. 2000. Dietary of (n-6)/(n-3) Polyunsaturated Fatty Acids Alters The Fatty Acid Composition of Bone Comparatmens and Biomarkers of Bone Formation in Rats. *J Nutr.* 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. *Food Oil and Their Uses*. The AVI Publishing, Westport, Connecticut.
- Whitehead. 1985. *Sardinella longisepts*. [serial on line]. <http://www.fishbase.org>. [20 Maret 2010]

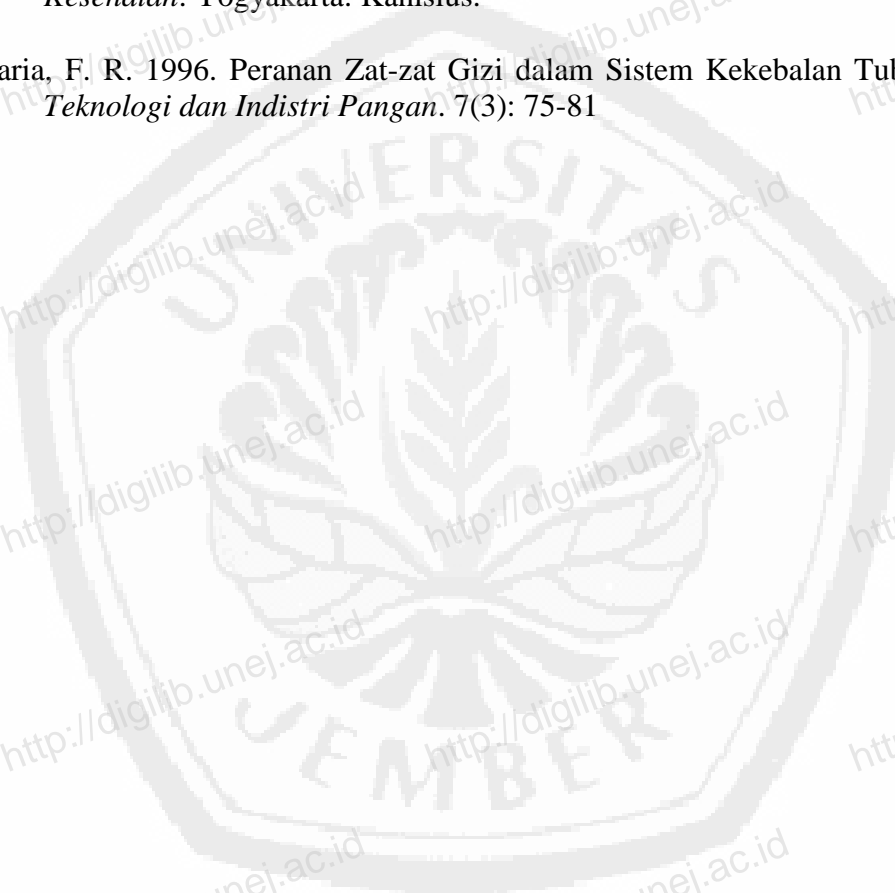
Wilson, Jr, T. G., Kornman, KS. 1996. *Fundamentals of Periodontics*. Carol Stream: Quintessence Publishing.

Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.

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



LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Ijin Penelitian

A1. Surat Ijin Penelitian Lab. Farmakologi

 <p>KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎ (0331) 333536, Faks. 331991</p>	
Nomor	: 1364 /UN25.1.8/PL.5/2012
Perihal	: Ijin Penelitian
Kepada Yth. Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember c.q. PJK. FARMAKOLOGI FKG Universitas Jember di <u>Jember</u>	
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	: Desy Khasanah Puspitaningrum
2. NIM	: 081610101084
3. Tahun Akademik	: 2011/2012
4. Fakultas	: Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	: Jln. Mastrip No. 45 Jember
6. Judul Penelitian	: Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella Longiceps</i>) Dan Vitamin C Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis Lab. Farmakologi FKG UNEJ
7. Lokasi Penelitian	: Lab. Farmakologi FKG UNEJ
8. Data/wal yang dipinjam	: -
9. Waktu	: Februari 2012 s/d selesai
10. Tujuan Penelitian	: Untuk Mengetahui Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella Longiceps</i>) Dan Vitamin C Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis
11. Dosen Pembimbing	: 1. drg. Yani Corvianindya R, M.Kes 2. drg. Izzata Barid, M.Kes
Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.	
Jember, 28 Mei 2012 Dekan Pembantu Dekan I  Dr. Ir. Ruhardyan Purnandja, M.Kes, Sp.Prost NIP. 196901121996011001	

Terbantuan Kepada Yth.
- PJK Lab Farmakologi FKG Universitas Jember

A2. Surat Ijin Penelitian Lab. Histologi



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

Nomor : 1363 /UN25.1.8/PL.5/2012
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember
c.q PJK. 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 | : Desy Khasanah Puspitaningrum |
| 2. NIM | : 081610101084 |
| 3. Tahun Akademik | : 2011/2012 |
| 4. Fakultas | : Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5. Alamat | : Jln. Mastrip No. 45 Jember |
| 6. Judul Penelitian | : Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella Longiseps</i>) Dan Vitamin C Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis |
| 7. Lokasi Penelitian | : Lab. Histologi FKG UNEJ |
| 8. Data/balat yang dipinjam | : - |
| 9. Waktu | : Februari 2012 s/d selesai |
| 10. Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella Longiseps</i>) Dan Vitamin C Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis |
| 11. Dosen Pembimbing | : 1. drg. Yani Corvianindya R, M.Kes
2. drg. Izzata Barid, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 28 Mei 2012



Sp. Dekan
Antu Dekan I



R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros
NIP. 1196901121996011001

Terbaca Kepada Yth.
PJK Lab Histologi FKG Universitas Jember

Lampiran B. Ethical Clearance

 <p>UNIT ETIKA DAN ADVOKASI FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta Telp. (0274) 902671</p>	
<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN ("ETHICAL CLEARANCE")</p>	
<p>No. 279/KKEP/FKG-UGM/EC/2012</p>	
<p>Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:</p>	
Judul	: "Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin C terhadap Aktivitas Osteoklas pada Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis"
Peneliti Utama	: Desy Khasanah Puspitaningrum
Penanggung Jawab Medis	: 1. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG 2. drg. Izzata Barid, M.Kes.
Unit/Lembaga	: FKG Universitas Jember
Tempat Penelitian	: Lab. Farmakologi dan Lab. Histologi FKG Universitas Jember
Waktu Penelitian	: Februari 2012 – Juni 2012
<p>Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik dengan perbaikan.</p>	
<p>Yogyakarta, 29 Mei 2012 Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM</p>  <p>drg. Suryono, S.H., Ph.D</p>	

Lampiran C. Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Osteoklas

	a	B	C	
I 7	8	9	8	8,33
I 7	7	8	9	8,00
I 7	8	7	7	7,33
II 7	9	10	10	9,67
II 7	9	8	9	8,67
II 7	7	8	9	8,00
III 7	4	6	5	5,00
III 7	6	5	6	5,67
III 7	5	6	6	5,67
IV 7	6	7	5	6,00
IV 7	8	7	7	7,33
IV 7	6	5	6	5,67
V 7	7	6	6	6,33
V 7	6	8	5	6,33
V 7	9	7	7	7,67

	a	B	c	
I 14	7	7	8	7,33
I 14	7	6	6	6,33
I 14	7	8	7	7,33
II 14	13	11	14	12,67
II 14	7	8	12	9,00
II 14	5	4	6	5,00
III 14	4	4	3	3,67
III 14	3	4	3	3,33
III 14	4	3	3	3,33
IV 14	6	4	5	5,00
IV 14	5	5	6	5,33
IV 14	5	4	7	5,33
V 14	7	7	6	6,67
V 14	5	6	8	6,33
V 14	5	4	4	4,33

Laporan Hasil pemeriksaan secara histologi Obsever I

Perhitungan Osteoklas dilakukan pada seluruh lapang pandang dari jaringan

	A	B	c
a1	3	6	8
a2	4	6	5
a3	5	5	6
b1	6	8	4
b2	7	6	8
b3	6	5	6
c1	8	6	6
c2	6	8	7
c3	8	9	8
d1	8	10	10
d2	7	7	9
d3	9	7	9
e1	8	8	7
e2	9	6	10
e3	6	5	6

	A	b	c
f1	3	4	3
f2	3	4	3
f3	3	3	3
g1	4	4	3
g2	6	6	5
g3	4	4	8
h1	8	8	5
h2	7	5	6
h3	5	4	4
i1	10	10	15
i2	8	9	13
i3	5	4	6
j1	8	6	9
j2	6	7	6
j3	5	6	4

Penanggung jawab lab histo

Pemeriksa

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP. 196709011997021001

Sri Wahyuningsih, A.Md
NIP 1976012119990302009

Laporan Hasil pemeriksaan secara histologi Obsever II

Perhitungan Osteoklas dilakukan pada seluruh lapang pandang dari jaringan

	A	B	c
a1	5	5	4
a2	3	5	6
a3	4	7	6
b1	6	5	7
b2	6	6	5
b3	7	4	5
c1	6	6	7
c2	7	8	5
c3	8	6	7
d1	9	10	9
d2	9	8	9
d3	6	8	9
e1	8	9	8
e2	6	8	9
e3	7	8	7

	a	b	c
f1	5	5	3
f2	3	3	3
f3	4	3	3
g1	6	4	3
g2	5	5	6
g3	5	4	7
h1	6	7	6
h2	4	7	5
h3	4	4	4
i1	14	11	14
i2	8	8	12
i3	4	4	6
j1	8	7	8
j2	6	6	6
j3	7	5	6

Penanggung jawab lab histo

Pemeriksa

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP. 196709011997021001

Nur Aini Hardyanti, A.Md, SP.
NIP 193082719990302003

Laporan Hasil pemeriksaan secara histologi Obsever III

Perhitungan Osteoklas dilakukan pada seluruh lapang pandang dari jaringan

	A	B	c
a1	4	4	6
a2	5	4	4
a3	6	6	6
b1	6	8	4
b2	11	9	8
b3	5	6	7
c1	7	6	5
c2	5	8	3
c3	11	6	6
d1	10	10	11
d2	11	9	9
d3	6	9	9
e1	8	10	9
e2	6	10	8
e3	11	8	8

	a	b	c
f1	4	3	3
f2	3	5	3
f3	5	3	3
g1	5	4	3
g2	4	4	7
g3	6	4	6
h1	7	6	7
h2	4	6	4
h3	6	4	4
i1	15	12	13
i2	5	7	11
i3	6	4	6
j1	5	8	7
j2	9	5	6
j3	6	4	5

Penanggung jawab lab histo

Pemeriksa

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP. 196709011997021001

Desy Kasanah P
NIM 081610101084

Lampiran D. Uji Statistik NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		I - H7	II - H7	III - H7	IV - H7	V - H7
N		3	3	3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7.8867	8.7800	5.1133	6.3333	6.7767
	Std. Deviation	.50954	.84042	.50954	.87877	.77365
Most Extreme Differences	Absolute	.255	.219	.255	.314	.385
	Positive	.196	.219	.255	.314	.385
	Negative	-.255	-.189	-.196	-.225	-.282
Kolmogorov -Smirnov Z		.441	.379	.441	.545	.667
Asymp. Sig. (2-tailed)		.990	.999	.990	.928	.766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		I - H14	II - H14	III - H14	IV - H14	V - H14
N		3	3	3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.3300	8.8900	3.4433	4.8867	5.4433
	Std. Deviation	1.00000	3.83618	.19630	.76788	1.17411
Most Extreme Differences	Absolute	.175	.178	.385	.385	.205
	Positive	.175	.178	.385	.282	.205
	Negative	-.175	-.178	-.282	-.385	-.185
Kolmogorov -Smirnov Z		.303	.308	.667	.667	.355
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	1.000	.766	.766	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Osteoklas
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.38833
	Std. Deviation	2.068821
Most Extreme Differences	Absolute	.111
	Positive	.111
	Negative	-.070
Kolmogorov -Smirnov Z		.609
Asymp. Sig. (2-tailed)		.852

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Osteoklas			
Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
2.349	9	20	.054

Oneway

Descriptives

Osteoklas									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
I - H7	3	7.88667	.509542	.294184	6.62089	9.15244	7.330	8.330	
II - H7	3	8.78000	.840417	.485215	6.69229	10.86771	8.000	9.670	
III - H7	3	5.11333	.509542	.294184	3.84756	6.37911	4.670	5.670	
IV - H7	3	6.33333	.878768	.507357	4.15035	8.51631	5.670	7.330	
V - H7	3	6.77667	.773649	.446667	4.85482	8.69852	6.330	7.670	
I - H14	3	6.33000	1.000000	.577350	3.84586	8.81414	5.330	7.330	
II - H14	3	8.89000	3.836183	2.214821	-.63961	18.41961	5.000	12.670	
III - H14	3	3.44333	.196299	.113333	2.95570	3.93097	3.330	3.670	
IV - H14	3	4.88667	.767876	.443333	2.97916	6.79418	4.000	5.330	
V - H14	3	5.44333	1.174110	.677872	2.52668	8.35998	4.330	6.670	
Total	30	6.38833	2.068821	.377713	5.61582	7.16084	3.330	12.670	

ANOVA

Osteoklas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	83.482	9	9.276	4.565	.002
Within Groups	40.639	20	2.032		
Total	124.121	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Osteoklas

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
I - H7	II - H7	-0.893	1.164	0.452	-3.321	1.534
	III - H7	2.773	1.164	0.027	0.346	5.201
	IV - H7	1.553	1.164	0.197	-0.874	3.981
	V - H7	1.110	1.164	0.352	-1.318	3.538
	I - H14	1.557	1.164	0.196	-0.871	3.984
II - H14	-1.003	1.164	0.399	-3.431	1.424	

	III - H14	4.443	1.164	0.001	2.016	6.871
	IV - H14	3.000	1.164	0.018	0.572	5.428
	V - H14	2.443	1.164	0.049	0.016	4.871
II - H7	I - H7	0.893	1.164	0.452	-1.534	3.321
	III - H7	3.667	1.164	0.005	1.239	6.094
	IV - H7	2.447	1.164	0.048	0.019	4.874
	V - H7	2.003	1.164	0.101	-0.424	4.431
	I - H14	2.450	1.164	0.048	0.022	4.878
	II - H14	-0.110	1.164	0.926	-2.538	2.318
	III - H14	5.337	1.164	0.000	2.909	7.764
	IV - H14	3.893	1.164	0.003	1.466	6.321
	V - H14	3.337	1.164	0.010	0.909	5.764
III - H7	I - H7	-2.773	1.164	0.027	-5.201	-0.346
	II - H7	-3.667	1.164	0.005	-6.094	-1.239
	IV - H7	-1.220	1.164	0.307	-3.648	1.208
	V - H7	-1.663	1.164	0.168	-4.091	0.764
	I - H14	-1.217	1.164	0.308	-3.644	1.211
	II - H14	-3.777	1.164	0.004	-6.204	-1.349
	III - H14	1.670	1.164	0.167	-0.758	4.098
	IV - H14	0.227	1.164	0.848	-2.201	2.654
	V - H14	-0.330	1.164	0.780	-2.758	2.098
IV - H7	I - H7	-1.553	1.164	0.197	-3.981	0.874
	II - H7	-2.447	1.164	0.048	-4.874	-0.019
	III - H7	1.220	1.164	0.307	-1.208	3.648
	V - H7	-0.443	1.164	0.707	-2.871	1.984
	I - H14	0.003	1.164	0.998	-2.424	2.431
	II - H14	-2.557	1.164	0.040	-4.984	-0.129
	III - H14	2.890	1.164	0.022	0.462	5.318
	IV - H14	1.447	1.164	0.228	-0.981	3.874
	V - H14	0.890	1.164	0.453	-1.538	3.318
V - H7	I - H7	-1.110	1.164	0.352	-3.538	1.318
	II - H7	-2.003	1.164	0.101	-4.431	0.424
	III - H7	1.663	1.164	0.168	-0.764	4.091
	IV - H7	0.443	1.164	0.707	-1.984	2.871
	I - H14	0.447	1.164	0.705	-1.981	2.874
	II - H14	-2.113	1.164	0.084	-4.541	0.314
	III - H14	3.333	1.164	0.010	0.906	5.761
	IV - H14	1.890	1.164	0.120	-0.538	4.318
	V - H14	1.333	1.164	0.265	-1.094	3.761
I - H14	I - H7	-1.557	1.164	0.196	-3.984	0.871
	II - H7	-2.450	1.164	0.048	-4.878	-0.022
	III - H7	1.217	1.164	0.308	-1.211	3.644
	IV - H7	-0.003	1.164	0.998	-2.431	2.424

	V - H7	-0.447	1.164	0.705	-2.874	1.981
	II - H14	-2.560	1.164	0.040	-4.988	-0.132
	III - H14	2.887	1.164	0.022	0.459	5.314
	IV - H14	1.443	1.164	0.229	-0.984	3.871
	V - H14	0.887	1.164	0.455	-1.541	3.314
II - H14	I - H7	1.003	1.164	0.399	-1.424	3.431
	II - H7	0.110	1.164	0.926	-2.318	2.538
	III - H7	3.777	1.164	0.004	1.349	6.204
	IV - H7	2.557	1.164	0.040	0.129	4.984
	V - H7	2.113	1.164	0.084	-0.314	4.541
	I - H14	2.560	1.164	0.040	0.132	4.988
	III - H14	5.447	1.164	0.000	3.019	7.874
	IV - H14	4.003	1.164	0.003	1.576	6.431
	V - H14	3.447	1.164	0.008	1.019	5.874
III - H14	I - H7	-4.443	1.164	0.001	-6.871	-2.016
	II - H7	-5.337	1.164	0.000	-7.764	-2.909
	III - H7	-1.670	1.164	0.167	-4.098	0.758
	IV - H7	-2.890	1.164	0.022	-5.318	-0.462
	V - H7	-3.333	1.164	0.010	-5.761	-0.906
	I - H14	-2.887	1.164	0.022	-5.314	-0.459
	II - H14	-5.447	1.164	0.000	-7.874	-3.019
	IV - H14	-1.443	1.164	0.229	-3.871	0.984
	V - H14	-2.000	1.164	0.101	-4.428	0.428
IV - H14	I - H7	-3.000	1.164	0.018	-5.428	-0.572
	II - H7	-3.893	1.164	0.003	-6.321	-1.466
	III - H7	-0.227	1.164	0.848	-2.654	2.201
	IV - H7	-1.447	1.164	0.228	-3.874	0.981
	V - H7	-1.890	1.164	0.120	-4.318	0.538
	I - H14	-1.443	1.164	0.229	-3.871	0.984
	II - H14	-4.003	1.164	0.003	-6.431	-1.576
	III - H14	1.443	1.164	0.229	-0.984	3.871
	V - H14	-0.557	1.164	0.638	-2.984	1.871
V - H14	I - H7	-2.443	1.164	0.049	-4.871	-0.016
	II - H7	-3.337	1.164	0.010	-5.764	-0.909
	III - H7	0.330	1.164	0.780	-2.098	2.758
	IV - H7	-0.890	1.164	0.453	-3.318	1.538
	V - H7	-1.333	1.164	0.265	-3.761	1.094
	I - H14	-0.887	1.164	0.455	-3.314	1.541
	II - H14	-3.447	1.164	0.008	-5.874	-1.019
	III - H14	2.000	1.164	0.101	-0.428	4.428
	IV - H14	0.557	1.164	0.638	-1.871	2.984

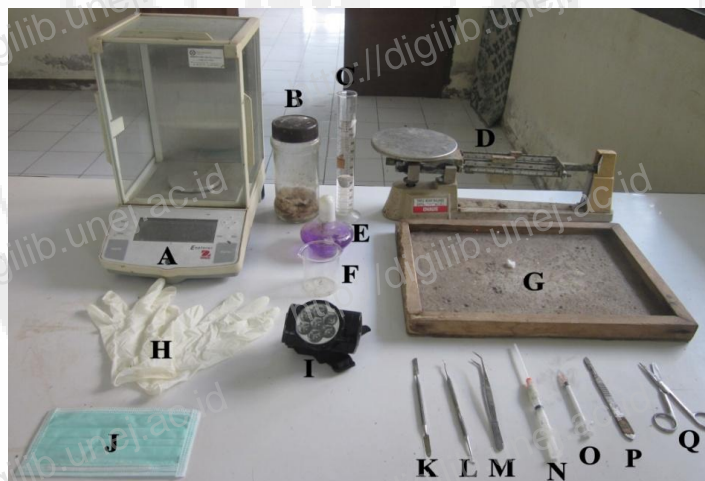
Lampiran E. Foto Penelitian

E.1 Alat penelitian



Catatan:

- | | |
|------------------------------|-----------------------|
| A. <i>Bekker glass</i> 50 ml | F. Alat pengaduk kaca |
| B. Labu Ukur 100 ml | G. Vitamin C uncoated |
| C. Aquadest steril | H. Tissue |
| D. Spatula | I. Timbangan digital |
| E. Pipet | |



Catatan:

- | | | |
|------------------------------|---------------------|------------------------------|
| A. Timbangan analitik | G. Parafin | M. Pinset |
| B. Alat dekapitasi | H. Sarung tangan | N. Sonde lambung |
| C. Tabung Ukur 100 ml | I. <i>Headlight</i> | O. <i>Disposable syringe</i> |
| D. Timbangan neraca | J. Masker | P. Scapel dan blade |
| E. Bunsen | K. Spatula | Q. Gunting |
| F. <i>Bekker glass</i> 50 ml | L. Eskavator | |



Catatan :

- | | |
|-------------------------|------------------------|
| A. Tissue | F. Pinset |
| B. Tabung dekalsifikasi | G. Tempat blok parafin |
| C. Bunsen | H. Deck glass |
| D. Kuas | I. Balok kayu |
| E. Cutter | J. Object glass |



Mikroskop Binokuler (Leica, USA)



Mikrotom



Slide warmer



Inkubator



Water bath



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

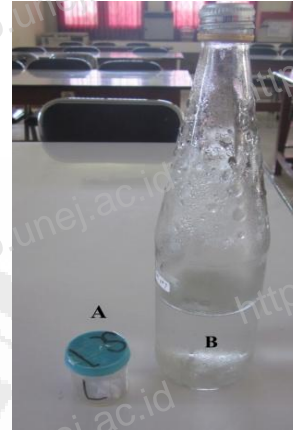


Catatan:
 A. Corong pisah (*Duran, Germany*)

E.2 Bahan Penelitian



Tikus Wistar Jantan umur 2



Catatan:

- A. LPS
- B. PBS



Catatan :

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



Catatan :

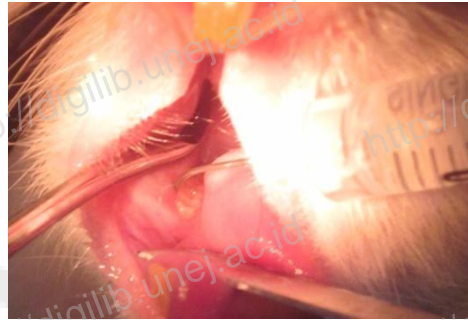
- A. Eter Chloride
- B. Natrium klorida 0,9% (Saline normal)
- C. Minyak ikan lemuru
- D. Vitamin c uncoated
- E. Ketamin
- F. Aquabidest

Aquadest steril

E.3 Foto Perlakuan Penelitian



Penyuntikan Ketamin



Induksi LPS



Sonde lambung pada tikus wistar jantan



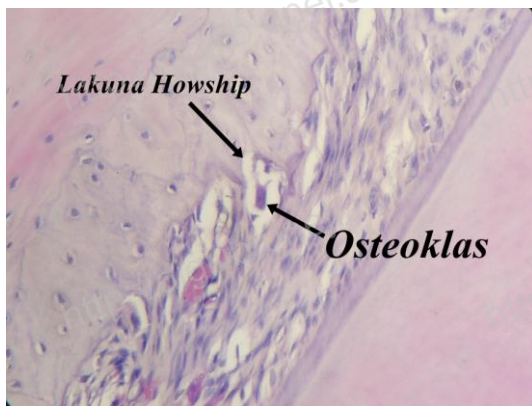
Proses perendaman jaringan dengan formalin 10%



Proses perendaman jaringan dengan asam format 10%

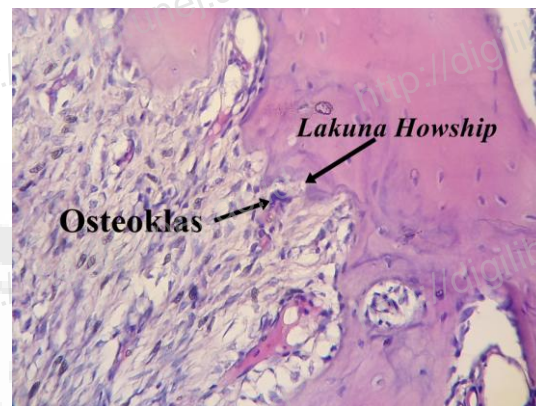
Lampiran F. Foto Hasil Penelitian

Perlakuan Hari ke 7



Kontrol (-) hari ke 7

Perlakuan Hari ke 14



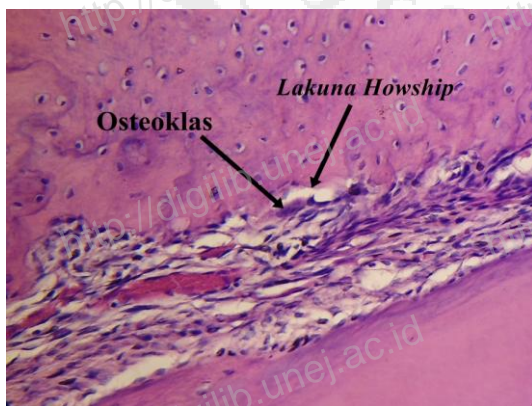
Kontrol (-) hari ke 14



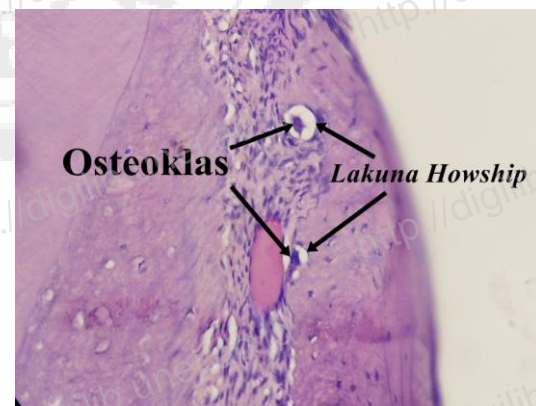
Kontrol (+) hari ke 7



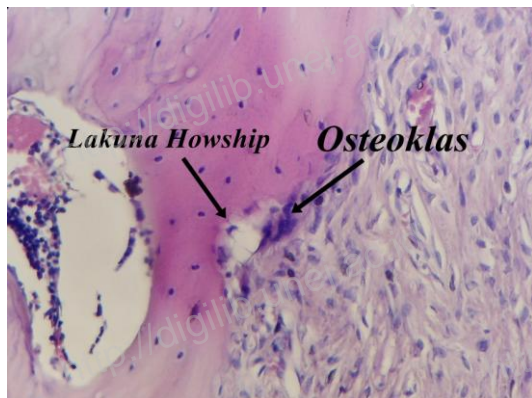
Kontrol (+) hari ke 14



Perlakuan I (Minyak Ikan) hari ke 7



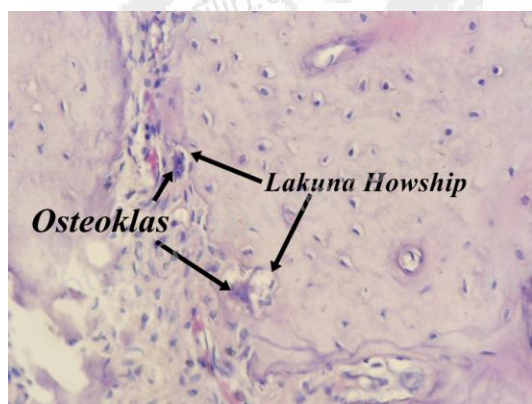
Perlakuan I (Minyak Ikan) hari ke 14



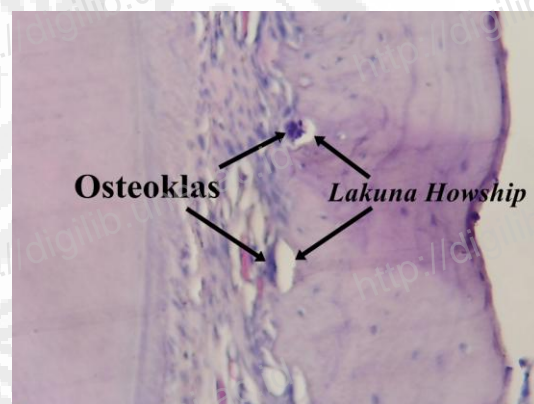
Perlakuan II (Vitamin C) hari ke 7



Perlakuan II (Vitamin C) hari ke 14



Perlakuan III (Minyak Ikan & Vitamin C) hari ke 7



Perlakuan III (Minyak Ikan & Vitamin C) hari ke 14

Keterangan: Osteoklas tulang alveolar gigi molar rahang bawah kelompok perlakuan hari ke 7 dan hari ke 14, pembesaran 400X dengan pewarnaan HE.