

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
PENELITIAN FUNDAMENTAL**



**MINYAK IKAN LEMURU (*SARDINELLA LONGICEPS*) MEREGLASI
SURVIVAL OSTEOBLAS DAN OSTEOKLAS, EKSPRESI INTEGRIN $\alpha\nu\beta 3$
TULANG ALVEOLARIS SERTA STRUKTUR GIGI PADA TIKUS YANG
MENGALAMI INFEKSI PERIODONTAL SELAMA MASA
ODONTOGENESIS**

Penanggung Jawab Program:

Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes
drg. Izzata Barid, M.Kes
drg. Ari Tri W. Handayani, M.Kes

DIDANAI DIPA UNIVERSITAS JEMBER NOMOR: 0175.0/023-042/XV/2009

TANGGAL 31 DESEMBER 2008

SPK No 855/H25.3.1/PL.6/2009 Tanggal 10 Juni 2009

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian :

Minyak ikan lemuru (*sardinella longiceps*) meregulasi survival osteoblas dan osteoklas, ekspresi integrin $\alpha\beta3$ tulang alveolaris serta struktur gigi pada tikus yang mengalami infeksi periodontal selama masa odontogenesis

2. Ketua peneliti :

- a. Nama Lengkap : Didin Erma Indahyani
- b. Jenis Kelamin : L/P
- c. NIP : 132 162 521
- d. Jabatan Struktural : IIIc
- e. Jabatan Fungsional : Lektor
- f. Fakultas/Jurusan : Kedokteran Gigi
- g. Pusat Penelitian : Universitas Jember
- h. Alamat : Jl. Kalimantan 37 Jember
- i. Telpon/Faks : 0331-333536/0331-331991
- j. Alamat Rumah : Perum. Bumi Kaliwates, Jl. Nusantara Blok GL/10 Jember
- h. Telpon/Faks/E-mail: 08155904300/0331-331991/didinermae@yahoo.com

3. Jangka Waktu Penelitian : 2 tahun

4. Pembiayaan

- a. Jumlah yang diajukan ke Dikti : Rp. 80.000.000,-
- b. Jumlah biaya tahun ke 1 (satu) : Rp. 40.000.000,-
- Biaya tahun ke 1 (satu) yang diajukan ke Dikti : Rp. 40.000.000,-
- Biaya tahun ke – dari institusi lain : Rp. –

Jember, 4 Desember 2009

Mengetahui,

Dekan FKG Univ. Jember,

Ketua Peneliti,

drg. Herniyati, M.Kes

NIP. 131 479 783

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

NIP. 132 162 521

Menyetujui,

Ketua Lembaga Penelitian

Dr. Ir. Cahyoadi Bowo

NIP. 131 832 324

RINGKASAN

Infeksi periodontal selama odontogenesis mengakibatkan pembentukan gigi dan erupsinya akan terganggu misalnya gigi mengalami hipoplasi, hipokalsifikasi dan erupsi prematur, yang mengakibatkan gigi rentan terhadap karies. *Docohexanoic acid* (DHA) dan *eicosapentaenoic acid* (EPA) diketahui mampu menurunkan mediator-mediator resorpsi tulang yaitu prostaglandin (PGE_2) dan sitokin proinflamatori, sehingga dikatakan mampu meningkatkan pembentukan tulang. Minyak ikan limbah lemuru, mengandung DHA 8,91% dan EPA 13,70%. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis minyak ikan lemuru terhadap survival osteoblas dan osteoklas, ekspresi integrin $\alpha\beta 3$ serta struktur gigi pada tikus khususnya selama masa odontogenesis yang mengalami infeksi periodont. Selain itu penelitian ini juga untuk menganalisis potensi minyak ikan lemuru dalam menghambat terjadinya hipoplasi maupun hipokalsifikasi pada gigi tikus. Penelitian ini diharapkan memberi landasan ilmiah yang kuat mengenai potensi minyak ikan lemuru pada survival osteoblas dan osteoklas, ekspresi integrin $\alpha\beta 3$ tulang yang berperan penting pada proses remodeling tulang baik secara normal maupun patologis.

Penelitian ini direncanakan selama 2 tahun. Pada tahun I, 3 kelompok tikus Wistar, jantan, umur 5 hari masing-masing 10 ekor. Kelompok I tikus diinduksi dengan salin pada *buccal fold* rahang atas kanan regio molar (sebagai kontrol), kelompok II tikus diinduksi dengan lipopolisakarida (LPS) pada regio yang sama, untuk terjadinya infeksi periodontal. Kelompok III diinduksi LPS dan diberi minyak ikan. Masing-masing kelompok dibagi menjadi 2 sub kelompok untuk di dekapitasi pada umur 13 dan 21 hari. Survival osteoblas dan osteoklas diamati pada apoptosis osteoblas dan osteoklas dengan *DNA nick end labeling of bone sections* dan dilakukan pengamatan berdasarkan indeks *hypoplasia and hypocalsification index* (HHI) pada struktur giginya. Pada tahun ke II, dilakukan pengamatan pada ekspresi integrin $\alpha\beta 3$ tulang alveolaris diamati dengan imunohistokimia (IHC).

Hasil penelitian ini adalah tikus yang mengalami infeksi periodontal selama masa odontogenesis terjadi peningkatan survival osteoklas yang signifikan ($p < 0,05$) dan penurunan survival osteoblas yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol. Hal ini dapat dilihat dengan adanya jumlah osteoklas lebih tinggi, sedangkan

osteoblas banyak mengalami apoptosis. Peningkatan survival osteoklas ini mengakibatkan terjadinya hipoplasi dan hipokalsifikasi benih gigi pada tikus, dengan skoring mencapai 9, yaitu gigi mengalami hipoplasi dan hipokalsifikasi pada seluruh permukaan giginya. Minyak ikan lemuru secara signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan survival osteoblas dan melemahkan osteoklas. Apoptosis osteoklas nampak lebih tinggi pada kelompok yang diberi minyak ikan lemuru. Namun begitu akibat gangguan LPS, masih dapat mengakibatkan terjadinya hipoplasi dan hipokalsifikasi pada gigi tikus dengan skoring 5 dan 6, yaitu hipoplasi hanya satu permukaan gigi, bahkan beberapa tikus tidak mengalami gangguan struktur gigi.

Kesimpulan pada penelitian ini adalah bahwa minyak ikan lemuru dapat meningkatkan survival osteoblas dengan cara menurunkan apoptosis osteoklas dan meningkatkan jumlah osteoblas sehingga gangguan struktur gigi yang terjadi yaitu hipoplasi dan hipokalsifikasi email, dapat di hindari pada tikus yang mengalami infeksi selama masa odontogenesis.

SUMMARY

Periodontal infection during odontogenesis result hipoplasi, hipocalsification and eruption premature. The consequence is tooth rampant to caries. *Docohexasonoic acid* (DHA) and *eicosapentaenoic acid* (EPA) have known able decrease mediators bone resorption i.e. prostaglandin (PGE₂), cytokine proinflammatory. Fish oil lemuru (*sardinella longiceps*) contain DHA 8.91% and EPA 13.70%. The aim of study was to analyse fish oil lemuru to survival osteoblast and osteoclast, expression of integrin $\alpha\beta3$ and tooth structure on rats during odontogenesis that induced periodontal induction. The study was too analyze potency of fish oil lemuru in inhibit tooth hypoplasii and hypocalcification. The study was hoped to provide basics of science strongly to potency of fish oil lemuru on osteoblast and osteoclast survival, expression of integrin $\alpha\beta3$ that have role of important in bone remodeling normally and pathologically.

The study was arrangement during 2 years. The first year, three groups rats, Wistar, male, 5 days. The first group, rats were injected salin on carried out on buccal fold of maxilla right molar area. The second group, rats were injected LPS on similar region. The three group, rat were injected LPS and administered orally fish oil lemuru. Each of groups was divided to 2 sub groups to decapitate on 13 and 21 days age. Survival osteoblast and osteoclast were analyzed on apoptosis use DNA *nick end labeling of bone sections* and done analyze HHI on tooth structure. In the second years, was prepared analyze expression of alveolaris bone integrin $\alpha\beta3$ use IHC.

Result of the study was periodontal infection cause increase survival osteoclast significantly, and decrease osteoblast significantly. The event can be known that numbers of osteoclast higher than osteoblast and osteoblast apoptosis higher than osteoclast apoptosis. Increasing of osteoclast survival caused hypoplasia and hypocalcification on rats tooth bud. The scoring of HHI index was 9, it is mean that hypoplasia and hypocalsification involved all of tooth surface. Fish oil of lemuru increasing survivall osteoblast and reduce survival of osteoclast significantly. Apoptosis of osteoclast was higher than groups of rat that were administered fish oil of lemuru. However, consequence periodontal infection can cause tooth hypoplasia and

hypocalcification. Scoring of HHI index was 5 and 6, its means that hypoplasia involved one of tooth surface. In fact these groups could found more rats did not suffer hypoplasia and hypocalcification.

The conclusion were fish oil of lemuru increased survival of osteoblast by suppressed apoptosis osteoclast and increased numbers of osteoblast. Fish oil of lemuru can too prevent hypoplasia and hypocalcification of tooth on rats infected periodontal during odontogenesis.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT, karena hanya dengan ijinNya penulisan karya tulis ilmiah ini dapat diselesaikan. Penulisan karya tulis ini bertujuan untuk menganalisis minyak ikan lemuru terhadap survival osteoblas dan osteoklas, ekspresi integrin $\alpha\beta 3$ serta struktur gigi pada tikus khususnya selama masa odontogenesis yang mengalami infeksi periodontal. Selain itu penelitian ini juga untuk menganalisis potensi minyak ikan lemuru dalam menghambat terjadinya hipoplasi maupun hipokalsifikasi pada gigi tikus. Penelitian ini diharapkan memberi landasan ilmiah yang kuat mengenai potensi minyak ikan lemuru pada survival osteoblas dan osteoklas, ekspresi integrin $\alpha\beta 3$ tulang yang berperan penting pada proses remodeling tulang baik secara normal maupun patologis.

Penulis mengucapkan banyak terimakasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya atas dukungan moril maupun materiil dari berbagai pihak yaitu kepada Dekan Fakultas Kedokteran Gigi yang telah memberikan dukungan, Lembaga Penelitian Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mendapatkan grant dana penelitian, Direktorat Pendidikan Tinggi atas seluruh dukungan pembiayaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh tim penelitian, dan teman-teman sejawat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dan dukungannya serta teknisi laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang memberikan tenaga, dan fikirannya.

Akhir kata, penulis hanya dapat berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat membawa kebaikan dalam pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang ilmu kesehatan dan semoga menjadi salah satu bentuk ibadah kepada Allah SWT. Amin

Jember, 3 Desember 2009

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
<i>SUMMARY</i>	v
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
1. Sel-sel tulang	3
2. Survival osteoblas dan osteoklas	5
3. Lesi periapikal	7
4. Lipopolisakarida (LPS)	8
5. Minyak ikan	9
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	12
1. Tujuan	12
2. Manfaat Penelitian	12
BAB III. METODE PENELITIAN	13
1. Jenis Penelitian	13
2. Variabel bebas	13
3. Variabel terikat	13
4. Variabel terkendali	13
5. Bahan dan alat penelitian	13
6. Definisi Operasional	13
7. Bagan Penelitian	14

8. Cara Penelitian	15
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
1. Survival osteoblas dan osteoklas	19
2. Struktur Gigi	26
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
1. Kesimpulan	31
2. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jumlah osteoblas dan osteoklas	20
Tabel 2. Jumlah apoptosis sel osteoblas dan osteoklas.....	22
Tabel 3 : Frekwensi HHI indeks	26
Tabel 4. Hasil HHI indeks uji Mann Whitney	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme metabolisme n-3 dan n-6 PUFA	10
Gambar 2. Bagan penelitian.....	14
Gambar 3. Gambaran osteoblas dan osteoklas dengan pengecatan HE (pembesaran 1000x pada A dan B, pembesaran 400x pada C-F)	21
Gambar 4. Gambaran apoptosis osteoklas dan osteoblas, dengan TUNEL (pembesaran 1000x)	23
Gambar 5. Gigi Yang mengalami hipoplasi dan hipokalsifikasi	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Instrumen penelitian	38
Lampiran 2. Personalia tenaga peneliti beserta kualifikasinya	39
Lampiran 3. Analisis data one way anova dan LSD pada jumlah osteoblas dan osteoklas, apoptosis osteoblas dan osteoklas.	40
Lampiran 4. Hasil analisis non parametrik dengan Wilcoxon dan Mann-Whitney test pada HHI Index	46
Lampiran 5. Foto perlakuan pada tikus pada saat menginduksi LPS dan memberi minyak ikan.....	55

