

Efek pemberian minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap tinggi tulang mandibula tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi asap rokok

Iqbal Arif Affandi^{1*}, Dian Widya Damaiyanti¹, Widyastuti²

¹Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Indonesia

²Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Indonesia

*Korespondensi: damaiyanti@hangtuah.ac.id

Submisi: 4 September 2019; Penerimaan: 24 Desember 2019; Publikasi online: 31 Desember 2019

DOI: [10.24198/jkg.v31i3.25526](https://doi.org/10.24198/jkg.v31i3.25526)

ABSTRAK

Pendahuluan: Periodontitis adalah respons inflamasi pada jaringan periodontal yang dapat menyebabkan resorpsi tulang alveolar. Resorpsi tulang dapat dideteksi melalui tinggi tulang mandibula. Faktor predisposisi resorpsi tulang diantaranya adalah kebiasaan merokok. Nikotin sebagai konten utama rokok mampu merangsang inflamasi berlebih. Omega-3 dari minyak ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dapat bertindak sebagai anti-inflamasi dengan merangsang pelepasan sitokin anti-inflamasi. Tujuan penelitian adalah menganalisis efek pemberian minyak ikan lemuru terhadap resorpsi alveolar melalui tinggi mandibula setelah induksi asap rokok. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratoris dan telah disetujui oleh komite etik universitas Hang Tuah. Dua puluh satu tikus Wistar jantan dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok: Kelompok kontrol terapi (Kt), Kelompok terapi 1 (P1), Kelompok terapi 2 (P2). Semua kelompok diinduksi rokok selama 28 hari, pada hari ke-28 semua kelompok dipasangkan ligatur dan diinduksi rokok selama 7 hari, kemudian ligatur dilepas. Pada hari ke 35 kelompok (Kt) tidak menerima perawatan selama 10 hari, kelompok P1 diinduksi dengan rokok selama 10 hari, dan kelompok P2 diinduksi dengan rokok dan minyak ikan lemuru. Tikus dikorbankan pada hari ke 45 dan mandibula diambil. Pengukuran rata-rata tinggi mandibula menggunakan kaliper digital dengan satuan milimeter (mm) dari puncak alveolar ke basis mandibula. Analisis data menggunakan *independent t-test* dan *one-way ANOVA*. **Hasil:** Kt ($3,54 \pm 0,072$), P1 ($2,78 \pm 0,174$), P2 ($3,24 \pm 0,223$). Berdasarkan uji hipotesis *one-way ANOVA* didapatkan perbedaan antar kelompok ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* LSD dengan hasil terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$). **Simpulan:** Minyak ikan lemuru memiliki efek pada resorpsi tulang pada tikus yang diinduksi dengan asap rokok, dengan hasil tinggi tulang yang lebih baik dibandingkan kelompok kontrol.

Kata kunci: Inflamasi, omega-3, resorpsi tulang, rokok, *Sardinella longiceps*.

Effect of administration of *Sardinella lemuru* (*Sardinella longiceps*) on cigarette smoke-induced Wistar rat (*Rattus norvegicus*) mandibular bone height

ABSTRACT

Introduction: Periodontitis is an inflammatory response in periodontal tissue that can cause alveolar bone resorption. Bone resorption can be detected through the mandibular bone height. Predisposing factors for bone resorption include smoking. Nicotine is the main content of cigarettes that stimulates excessive inflammation. Omega-3 from *Sardinella lemuru* (*Sardinella longiceps*) oil can act as an anti-inflammatory by stimulating the release of cytokines. The study was aimed to analyse the effect of *Sardinella lemuru* oil administration on alveolar resorptions through the height of the mandibular bone height after induction of cigarette smoke. **Methods:** Twenty-one male Wistar rats were randomly selected and divided into three groups: Therapeutic control group (Kt), Therapeutic group 1 (P1), and Therapeutic group 2 (P2). All groups were induced cigarettes for 28 days. On the 28th day, all groups were ligated and induced with cigarette smoke for 7 days, and then the ligature was removed. On the 35th day, the Kt group have not received any treatment for 10 days, the P1 group was induced with cigarettes for 10 days, and the P2 group was induced with cigarette smoke and *Sardinella lemuru* oil. The rats were sacrificed on the 45th day and the mandible was taken. Measurement of the average mandible height was performed with digital callipers in units of millimetres (mm) from the alveolar crest to the base of the mandible. Data analysis was carried out with *independent t-test* and *one-way ANOVA*. **Results:** Kt (3.54 ± 0.072), P1 (2.78 ± 0.174), P2 (3.24 ± 0.223). Based on the *one-way ANOVA* hypothesis test, there were differences between groups ($p < 0.05$), then continued with *post-hoc* LSD test which showed significant differences between groups ($p < 0.05$). **Conclusion:** *Sardinella lemuru* oil affects bone resorption in rats induced with cigarette smoke, with higher height results than the control group.

Keywords: Inflammation, Omega-3, bone resorption, cigarette, *Sardinella longiceps*.

PENDAHULUAN

Kebiasaan merokok merupakan salah satu faktor yang meningkatkan risiko terjadinya penyakit periodontal. Bahan-bahan kimia yang terkandung dalam rokok bersifat toksik, salah satunya adalah nikotin. Nikotin dapat meningkatkan osteoklastogenesis yang mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang, dan berdampak kepada penurunan tulang mandibula.¹

Merokok tanpa filter dapat meningkatkan jumlah neutrofil yang mengakibatkan terbentuknya mediator proinflamatori berlebih, salah satunya adalah prostaglandin.² Prostaglandin mengaktifkan NF- κ B *pathway*, dengan jumlah yang banyak maka sel osteoklas yang teraktivasi meningkat.³ Prostaglandin juga menghambat terbentuknya osteoprotegerin (OPG) sehingga an *receptor activator NF- κ B ligand* (RANKL) berikatan. RANK dan RANKL yang berikatan mengaktifkan sel osteoklas dan mengakibatkan sel osteoblas tidak dapat menstimulasi fibroblas untuk mensekresi matriks metalloproteinase (MMPs), dimana MMPs mengakibatkan degradasi dari matriks kolagen dalam tulang. Resorpsi yang terjadi pada tulang alveolar mandibula dapat mengakibatkan penurunan dari tinggi tulang mandibula.⁴

Kandungan asam lemak *docohexaenoic acid* (DHA) dan *eicosapentaenoic acid* (EPA) pada minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) memiliki senyawa bioaktif berupa Resolvin E (RvE1) yang menghambat produksi prostaglandin (PGE2), sehingga resorpsi tulang oleh osteoklas menurun.⁵ RvE1 bekerja mengikat *leukotriene B4* (LTB4) yang bisa menarik sel inflamasi yang memproduksi mediator proinflamasi, salah satunya PGE2. Leukotriene B4 (LTB4) menginduksi reseptor NF- κ B activation, sehingga NF- κ B pathway teraktivasi. NF- κ B pathway merupakan salah satu jalur signaling yang berperan dalam respon inflamasi.^{6,7} Selain itu, kandungan Lipoxin dalam Omega-3 berperan dalam perbaikan tulang seperti *lipoxin A₄* (LXA₄) dan *lipoxin B₄* (LXB₄) yang merupakan derivasi dari asam aradidonat yang memiliki fungsi antiinflamasi dengan menghambat *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang merupakan jalur pembentukan PGE2. Mekanisme RvE1 dalam menghambat PGE2 melalui *Nuclear Transkrip Factor Kappa β* (NF- κ B) *pathway* yang merupakan jalur proinflamasi.⁸ Menurunnya mediator inflamasi

membuat sel osteoblas mensekresikan *Tissue inhibitor metalloproteinase-1* (TIMP-1) sehingga sekresi MMPs oleh osteoblas yang berfungsi mendegradasi kolagen dalam tulang akan menurun.⁸ Tujuan penelitian menganalisis efek pemberian minyak ikan lemuru terhadap resorpsi alveolar melalui tinggi mandibula setelah induksi asap rokok.

METODE

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian ini telah disetujui oleh komite etik penelitian kesehatan dengan nomer sertifikat: 082/KEPK/III/2018. Tikus wistar jantan dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol (Kt), kelompok perlakuan (P1), kelompok perlakuan (P2). Semua hewan coba pada hari ke-1 sampai hari ke-28 diinduksikan rokok, pada hari ke-28 sampai hari ke-35 diinduksi ligasi dan rokok. Selanjutnya pada hari ke-35 dilakukan pelepasan ligasi pada semua hewan coba. Kelompok kontrol (Kt) pada hari ke-35 sampai hari ke-45, tidak diberi perlakuan apapun. Kelompok perlakuan (P1) pada hari ke-35 sampai hari ke-45, kembali diinduksi rokok. Kelompok perlakuan (P2) pada hari ke-35 sampai hari ke-45, kembali diinduksi rokok serta diet minyak ikan lemuru. Kelompok perlakuan (P2) diberikan diet minyak ikan lemuru dengan dosis 9 ml/ kgBB, sehingga pada hewan coba dengan berat badan 200g didapatkan dosis 1,8 ml/ 200g. Pemberian diet minyak ikan lemuru dilakukan setiap hari selama proses penyembuhan.

Hari ke-45 dilakukan *euthanasia* pada hewan coba menggunakan campuran ketamin dan diazepam dengan dosis euthanasia 2,5-5 ml/kg BB untuk diazepam dan 60-75 ml/kg BB untuk ketamin. Spesimen berupa tulang mandibula, diambil setelah hewan coba dieuthanasia. Spesimen diukur menggunakan digital kaliper dengan satuan milimeter (mm). Tinggi tulang mandibula diukur dari margo mandibula hingga ke alveolar ridge.

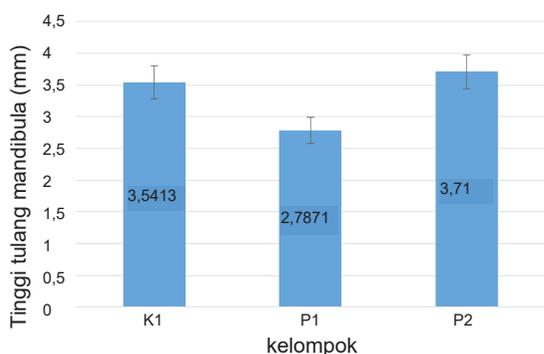
Data primer yang didapat akan dilihat sebaran distribusi datanya melalui uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50, dan dilihat juga homogenitas datanya melalui *levene's test*.

Uji hipotesis dilakukan menggunakan One-way ANOVA apabila data telah homogen dan terdistribusi normal, apabila data tidak terdistribusi

dengan normal maka dilakukan uji hipotesis menggunakan Tomhane dengan presentase 95% ($p > 0,05$). Hasil analisis One-way ANOVA akan menunjukkan nilai signifikansi jika nilai $p < 0,05$ dan hasil pengukuran akan menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

HASIL

Tinggi tulang mandibula pada proses healing dari periodontitis dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik rata-rata tinggi tulang mandibula

Gambar 1 menunjukkan rata-rata tinggi tulang mandibula. Nilai tinggi tulang paling besar terdapat pada kelompok kontrol.

Tabel 1. Uji Normalitas

Kelompok	df	Shapiro-Wilk
Kontrol	7	0,978*
Perlakuan 1	7	0,873*
Perlakuan 2	7	0,977*

* $p > 0,05$ normal

Berdasarkan data yang diperoleh semua kelompok berdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$.

Tabel 2. Uji homogenitas levene's test

Statistik	Sig.
0,162	0,851*

* $p > 0,05$ Signifikan

Hasil uji homogenitas, menunjukkan semua kelompok homogen karena nilai $p > 0,05$, sehingga dilanjutkan dengan uji One-way ANOVA.

Hasil uji One-way ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tinggi tulang mandibula yang antar kelompok, dimana nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Kemudian uji lanjutkan dengan post hoc LSD untuk mengetahui signifikansi antar kelompok.

Tabel 3. Uji One-way ANOVA

	F	Sig
Pengaruh rokok dan proteksi minyak ikan lemuru, terhadap tinggi tulang mandibula pasca terapi menghilangkan faktor lokal.	35,293	0,000*

* $p < 0,05$ Signifikan

Tabel 4. Uji post hoc least significant difference (LSD)

Kelompok	Kt	P1	P2
Kt		0,000*	0,004*
P1			0,000*
P2			

* $p < 0,05$ Signifikan

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara tinggi tulang mandibula antar kelompok, dimana nilai $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian pada tabel 3 menunjukkan pada kelompok kontrol yang tidak diinduksikan rokok dan minyak ikan lemuru pada proses penyembuhannya, memiliki tinggi tulang yang lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan yang diberi tambahan minyak ikan lemuru memiliki tinggi tulang lebih tinggi, dibandingkan kelompok perlakuan yang hanya diinduksi rokok saja. Kelompok perlakuan yang diinduksi rokok pasca pembersihan faktor lokal menunjukkan tinggi tulang lebih rendah dibanding kelompok kontrol terapi.

Penelitian ini menunjukan bahwa rokok mempengaruhi resorpsi tulang alveolar, dan minyak ikan lemuru dapat memproteksi resiko resorpsi yang disebabkan rokok. Pada penelitian menggunakan minyak ikan lemuru dengan tikus yang diinduksi Lipopolisakarida (LPS), didapatkan hasil bahwa minyak ikan lemuru mampu untuk menghambat mediator inflamasi PGE2 dan menurunkan resorpsi tulang.⁹ Hal ini sejalan dengan hasil penelitian, bahwa minyak ikan lemuru dapat menurunkan resorpsi tulang akibat rokok.

Kandungan tar yang terdapat di dalam rokok masuk sebagai uap panas dan akan menjadi stain pada gigi ketika terkena udara. Stain membuat permukaan gigi menjadi kasar yang mengakibatkan bakteri mudah menempel, dimana bakteri yang menempel tersebut akan memicu respon inflamasi tubuh.^{10,11} Respon inflamasi pada perokok akan diperparah dengan adanya nikotin yang

meningkatkan faktor proinflamasi, salah satunya adalah *Prostaglandine* (PGE2). *Prostaglandine* (PGE2) akan meningkatkan *receptor activator of nuclear factor kappa β ligand* (RANKL) yang merupakan kunci mediator dalam pembentukan osteoklas. Peran dominan RANKL dalam fisiologi tulang adalah menstimulasi diferensiasi osteoklas yang akan mengakibatkan resorpsi tulang alveolar.^{12,13} Hal ini sesuai dengan hasil penelitian tabel 1, yang menunjukkan bahwa pemberian minyak ikan lemuru mampu menurunkan resorpsi tulang, ditandai dengan peningkatan tinggi tulang mandibular. Kandungan Omega 3 pada minyak ikan lemuru dapat menurunkan inflamasi sehingga kerusakan alveolar tidak meluas.¹⁴

Penelitian ini menggunakan bahan rokok dengan kandungan tar 38 mg dan nikotin 2,2 mg setara dengan merokok dengan kandungan nikotin sedikit.¹⁵ Minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) didapatkan dari sisa hasil pengalengan ikan. Omega-3 yang terkandung dalam minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) berperan sebagai imunomodulator atau menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi, salah satunya adalah PGE2. *Prostaglandine* (PGE2) yang menurun akan meregulasi inflamasi melalui ikatan RANKL dan osteoprotegerin (OPG).¹⁴ RANKL/OPG yang meningkat menyebabkan sel osteoblas yang aktif meningkat dan sel osteoklas sebagai sel antagonis aktifitasnya menurun dikarenakan aktivasi RANKL/RANK yang menurun, sehingga resorpsi tulang berkurang karena aktivasi sel osteoklas yang menurun dan terjadinya pembentukan tulang baru yang diakibatkan oleh meningkatnya aktifitas sel osteoblas. Adanya pembentukan tulang baru oleh osteoblas, akan meregenerasi tulang yang telah terresorpsi sehingga tinggi tulang mandibula meningkat.¹⁶ Hal ini juga sejalan dengan penelitian Dwiya, (2012) yang menyatakan bahwa minyak ikan lemuru efektif dalam menurunkan tingkat resorpsi tulang alveolar.¹⁷

Hasil dari kelompok perlakuan yang telah dihilangkan faktor lokalnya (ligasi) dengan tetap diinduksi rokok selama proses penyembuhan menunjukkan peningkatan angka resorpsi tulang dibanding kelompok perlakuan yang diberi tambahan diet minyak ikan lemuru selama proses penyembuhan dapat dilihat pada gambar 1, sehingga dapat disimpulkan bahwa minyak ikan lemuru mampu memproteksi jaringan periodontal

dari inflamasi berlebih yang disebabkan induksi rokok, serta ikut berperan dalam proses penyembuhan.¹⁴ Pada penelitian Damaiyanti, 2019 didapatkan hasil bahwa pemberian lemuru pada periodontitis dengan induksi bakteri, lemuru dapat meningkatkan osteoblast dan menurunkan osteoklas. Kandungan dari lemuru EPA dan DHA sebagai antiinflamasi dapat menghambat proses peradangan akibat bakteri, sehingga didapatkan penurunan resorpsi tulang.¹⁸ Hal ini sejalan pada penelitian kali ini dimana dapat disimpulkan bahwa pemberian lemuru dapat menurunkan resorpsi tulang ditandai dengan tinggi tulang yang lebih baik.

SIMPULAN

Pemberian minyak ikan lemuru mempengaruhi resorpsi tulang dengan meningkatkan tinggi tulang mandibula tikus wistar yang diinduksi rokok.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kubota M, Yanagita M, Mori K, Hasegawa S, Yamashita M, Yamada S et al. The effects of cigarette smoke condensate and nicotine on periodontal tissue in a periodontitis model mouse. *PloSone*. 2016 May 20;11(5):e0155594. DOI: [10.1371/journal.pone.0155594](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155594).
2. Lauritano D, Muzio LL, Gaudio RM, Russo LL, Mucchi D et al. Why should patient with systemic disease and tobacco smokers go to the dentist? *J Biol Regul Homeost Agents*. 2016 Apr-Jun;30(2 Suppl 1):135-41.
3. Epsilawati L. Hubungan penurunan tulang alveolar dan penipisan tulang kortikal mandibula pada penderita periodontitis disertai diabetes militus tipe-2 menggunakan radiografi cone beam computed tomografi-3D. *IJAS* 2012;2(2):86-9. DOI: [10.24198/ijas.v2i2.2739](https://doi.org/10.24198/ijas.v2i2.2739)
4. Ganong WF. Buku ajar fisiologi kedokteran 22th ed. Jakarta: EGC. 2008. h. 1033-9.
5. Indahyani D. Pengaruh pemberian minyak ikan terhadap proses erupsi gigi dengan infeksi tulang alveolaris pada tikus yang diinduksi lipopolisakarida (LPS), Disertasi. 2008. h. 1-80.
6. Lin J, Bi L, Yu X, Kawai T, Taubman MA, Shen B, Han X. Porphyromonas gingivalis Exacerbates Ligation-Induced, RANKL-Dependent Alveolar Bone Resorption via Differential Regulation

- of Toll-Like Receptor 2 (TLR2) and TLR4. *IAI Infect Immun.* 2014 Oct;82(10):4127-34. DOI: [10.1128/IAI.02084-14](https://doi.org/10.1128/IAI.02084-14)
7. Mdala I, Haffaje AD, Socransky SS, Blasio BFD, Thoresen M, Olsen I, Multilevel analysis of clinical parameters in chronic periodontitis after rootplaning /scaling surgery, and systemic and local antibiotics: 2-year Results. *J Oral Microbiol* 2012;4:1-12. DOI: [10.3402/jom.v4i0.17535](https://doi.org/10.3402/jom.v4i0.17535).
 8. Lawrence T. The nuclear factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009 Dec;1(6): a001651. DOI: [10.1101/cshperspect.a001651](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001651).
 9. Indahyani DE. Minyak ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) menurunkan apoptosis osteoblas pada tulang alveolaris tikus wistar (Fish oil of Lemuru (*Sardinella longiceps*) reduced the osteoblast apoptosis in wistar rat alveolar bone). *Dent J (MKGI).* 2013 Dec 1;46(4):185-9. DOI: [10.20473/j.djmkg.v46.i4](https://doi.org/10.20473/j.djmkg.v46.i4).
 10. Poana PM, Mariati NW, anindita PS. Gambaran status gingiva pada perokok di desa buku Kecamatan Belang Kabupaten Minahasa Tenggara. *e-GiGi.* 2015;3(1):223-8. DOI: [10.35790/eg.3.1.2015.8078](https://doi.org/10.35790/eg.3.1.2015.8078)
 11. Diba CM, Banny ZU, Sunnati. Hubungan tingkat pengetahuan dampak merokok terhadap kesehatan rongga mulut dengan status kebersihan rongga mulut (Remaja Desa Cot Mesjid Kecamatan Lueng Bata Kota Banda Aceh). *J Canin Dent* 2016;1(4):12-9.
 12. Quamilla N. Stres dan kejadian periodontitis. *J Syiah Kuala Dent Soc* 2016;1(2):161-8.
 13. Brahmanta A. Mekanisme percepatan remodeling jaringan periodontal akibat pemberian oksigen hiperbarik pada pergerakan gigi ortodonti. Surabaya: Disertasi. Univ Airlangga 2016. h. 59-92.
 14. Damaiyanti DW, Widyastuti W, Paramita A, Megantara A, Ibrohim M. Lemuru fish oil (*sardinella longiceps*) therapy on periodontal wistar rats induced with porphyromonas gingivalis bacteria: osteoblast and osteoclast. *J Biotechnol and Strategic Health Res.* 2019;3(2):128-34 DOI: [10.34084/bshr.597830](https://doi.org/10.34084/bshr.597830).
 15. Christian R, Tjahjono K, Amalia N, Setyawati. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*nigella sativa*) terhadap kadar mda serum tikus sprague dawley setelah diberikan paparan asap rokok. *J Ked Diponegoro.* 2016;5(4):1603-12.11-28
 16. Sari RP, Hermanto E, Divilia D, Candra I, Kuncoro W, Liswanti T. Effects of anadara granosa shell combined with *Sardinella longiceps* oil on oosteoblast proliferation in bone defect healing process. *Dental J* 2016;49(1):27-31. DOI: [10.20473/j.djmkg.v49.i1](https://doi.org/10.20473/j.djmkg.v49.i1).
 17. Dwiya RS. Pengaruh pemberian minyak ikan lemuru (*sardinella longiceps*) dan vitamin C terhadap resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis. Skripsi. 2012. h. 40.