

LAPORAN PENELITIAN

Efektivitas Kombinasi *Grafting Cangkang Kerang Darah (Anadara granosa)* dan Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Terhadap Penurunan Jumlah Osteoklas Pada Proses *Bone Repair*

(The Effectivity of Grafting Combination Blood Cockle Shell and Sardine Fish Oil to Decrease in The Number of Osteoclasts in The Process of Bone Repair)

Dinda Divilia*, Rima Parwati Sari**, Paulus Budi Teguh***

* Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: In dentistry, complication post-extraction, disease periodontal, prosthetic surgery, pathological conditions, and trauma can cause alveolar bone loss and even lead to tooth loss. The use of hydroxyapatite derived from blood cockle shells is osteokondiction. Omega-3 in sardine oil will stimulate the healing process of damaged bone with decreasing in the number of the osteoclasts. **Purpose:** The aimed of this study to determine the Effectivity of Grafting Combination Blood Cockle Shell and Sardine Fish Oil to Decrease in The Number of Osteoclasts in The Process of Bone Repair **Methods:** Animals used in research, as many as 24 male Wistar rats, which then divided into 4 groups, namely the control group and the treatment group. The control group subdivided into two groups, normal healing and human application's paste. In the treatment group, also divided into two groups, group with blood cockle shell application and combination of blood cockle shell and sardine oil. Osteoclasts viewed using HPA on the 7th day. **Results:** Decrease in The Number of Osteoclasts on K-group : 2.67 ± 1.033 , P1 : 2.33 ± 0.09 , K+ : 1.5 ± 0.09 , P2 : 0.83 ± 0.54 . Because the data not homogeneous then used test Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney. P1 with P2 have a difference significantly compared 0,048 , P2 with K- 0,026 ($p < 0,05$). **Conclusions:** Combined administration of blood cockle shell (*Anadara granosa*) and sardine oil (*Sardinella longiceps*) significantly influence the amount of osteoclasts in the process of bone repair on the 7th day.

Keywords: Blood cockle shell, sardine oil, osteoclasts, bone repair

Correspondence: Rima Parwati Sari, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Fax 031-5912191, Email: rimaparwatisari@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: Dalam kedokteran gigi, luka pasca ekstraksi, penyakit periodontal, bedah prostetik, kondisi patologis, dan trauma dapat menyebabkan kerusakan bahkan kehilangan tulang alveolar apabila tidak dilakukan perawatan dapat mengakibatkan tenggelangnya gigi. Penggunaan bahan hidroksiapatit yang berasal dari cangkang kerang darah yang banyak mengandung CaCO_3 dapat mengisi bone defect dan mengembalikan fungsi tulang. Kandungan omega-3 pada minyak ikan lemuru akan merangsang proses penyembuhan kerusakan tulang dengan penurunan jumlah osteoklas. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi grafting cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses bone repair. **Metode:** Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus wistar jantan, yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Osteoklas dilihat menggunakan HPA pada hari ke-7. **Hasil :** Berdasarkan uji statistik deskriptif terjadi penurunan jumlah osteoklas dengan rata-rata kelompok K- : 2.67 ± 1.033 , P1 : 2.33 ± 0.09 , K+ : 1.5 ± 0.09 , P2 : 0.83 ± 0.54 . Oleh karena data tidak homogen maka uji yang digunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney. P1 dengan P2 memiliki perbedaan yang bermakna 0,048 ,dan P2 dengan K- 0,026 ($p < 0,05$). **Simpulan:** Kombinasi pemberian cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah osteoklas pada proses bone repair pada hari ke-7.

Kata kunci: Cangkang kerang darah, minyak ikan lemuru, osteoklas, proses penyembuhan tulang

Correspondence: Rima Parwati Sari, Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, Fax 031-5912191, Email: rimaparwatisari@gmail.com

PENDAHULUAN

Kerusakan tulang alveolar dapat terjadi oleh adanya trauma yang cukup besar akibat komplikasi pasca pencabutan, tumor, infeksi, protesa yang tidak adekuat, dan penyakit sistemik.^{1,2} Dalam kedokteran gigi, luka pasca ekstraksi, penyakit periodontal, bedah prostetik, kondisi patologis, dan trauma dapat menyebabkan kerusakan bahkan kehilangan tulang alveolar.^{3,4} Sel osteoklas meresorpsi dan menyerap sel-sel tulang yang meningkatkan kelarutan matriks organik sehingga kerusakan tulang terjadi. Jumlah sel osteoklas yang lebih banyak dari sel osteoblas akan menyebabkan terjadinya resorpsi tulang.^{1,5}

Proses penyembuhan tulang dalam memulihkan fungsi dan bentuknya ada 3 tahap yaitu fase inflamasi, *reparative*, dan *bone repair*. Adanya inflamasi pada jaringan periodontal yang mengeluarkan makrofag memproduksi beberapa mediator resorpsi tulang termasuk IL-1, IL-6 dan TNF- α yang akan meningkatkan regulasi *receptor activator of nuclear factor- B ligand* (RANKL) yang di ekspresikan oleh osteoblas. RANKL yang berikatan dengan RANK di sinyaling oleh *preosteoklas* yang mengarah pada pembentukan osteoklas. Pada sel osteoblas yang sama terdapat OPG yang berfungsi menghambat RANKL berikatan dengan RANK ikatan ini akan menurunkan proses diferensiasi *preosteoklas* dan menghambat

pematangan sel osteoklas, sehingga terjadi proses *bone repair*.^{6,7}

Terapi dengan menggunakan *bone graft* digunakan untuk merangsang pembentukan kerusakan tulang dan regenerasi kerusakan tulang akibat penyakit periodontal, pembedahan pada odontektomi, serta digunakan sebagai cara untuk mengatasi adanya resorpsi tulang pada perawatan lainnya, seperti dental implan. *Bone graft* juga berperan sebagai *scaffold* atau kerangka sehingga terjadi reparasi sel tulang.^{8,9} Fungsi *graft* pada tulang untuk mendorong osteogenesis yaitu osteoinduksi dan osteokonduksi. Kontribusi *graft* dimulai dengan proses osteokonduksi dengan membuat kerangka matriks tulang di jaringan *resipien* dan dilanjutkan dengan stimulasi pembentukan tulang sebagai proses osteoinduksi.¹⁰

Berbagai macam *bone graft* yang dapat digunakan untuk regenerasi tulang dapat dikelompokkan menjadi *autograft*, *allograft*, *xenograft* dan *alloplast*. Peneliti menggunakan *xenograft* karena jumlah besar tulang dapat diperoleh, bersifat osteokonduksi, *biocompatible* dengan jaringan sekitarnya, tidak ada respon imun sistemik, menstabilkan bekuan darah dan revaskularisasi sehingga terjadi migrasi osteoblas.⁸ Secara umum *bone graft* akan meningkatkan produksi *bone morphogenetic protein* (BMP). BMP akan meningkatkan produksi osteoblas yang membentuk ligan OPG berfungsi menghambat adanya ikatan RANKL dengan RANK, sehingga menekan pembentukan osteoklas dan BMP menginduksi osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi sel osteoblas yang aktif kemudian membentuk tulang baru.^{11,12} *Xenograft* terdiri dari kalsium karbonat dan kalsium fosfat yang merupakan

bahan keramik biomaterial yang bersifat bioaktif dan biokompabilitas yang baik. Senyawa kalsium karbonat yang sering digunakan adalah hidroksiapatit karena memiliki sifat fase paling stabil, tidak korosi dan tidak beracun.¹³

Salah satu bahan alami yang mengandung hidroksiapatit yang banyak ditemukan sebagai sumber daya bernilai ekonomis yang pada umumnya belum dimanfaatkan secara maksimal adalah kerang darah (*Anadara granosa*). Kerang darah (*Anadara granosa*) kebanyakan hanya isinya saja yang dijadikan makanan yang kaya protein, sementara cangkangnya dibuang menjadi limbah. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan nilai tambah kerang darah, yaitu dengan memanfaatkan limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*). Cangkang merupakan alat pelindung diri, terdiri atas lapisan karbonat (*crystalline calcium carbonate*), dipisahkan oleh lapisan tipis (lembaran) protein di antara cangkang dan bagian tubuh. Cangkang kerang darah banyak mengandung kalsium yang diperlukan untuk proses penyembuhan tulang. Kandungan mineral yang terkandung didalam cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) antara lain CaC 98,7%, Mg 0,05%, Na 0,9%, P 0,02%.¹⁴ Cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) digunakan sebagai sumber kalsium yang baik dan dapat meningkatkan adhesi sel, proliferasi, dan diferensiasi yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh.^{15,16}

Adanya proses inflamasi pada proses *bone repair* yang memproduksi IL-1, IL-6, dan TNF- α sehingga dapat menghambat penyembuhan kerusakan tulang maka dicari bahan yang dapat menghambat mediator inflamasi

tersebut. Salah satu bahan anti inflamasi yang mempercepat rehabilitasi jaringan tulang adalah asam lemak tak jenuh omega-3 yang banyak terdapat di ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). Peneliti memilih ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) karena termasuk salah satu ikan yang memiliki kandungan omega-3 dan omega-6 tinggi berkisar sekitar 11,33% - 40,26% , kandungan tersebut tergantung dari beberapa faktor seperti genetik, lingkungan dan ukuran ikan tersebut dan ikan lemuru mudah didapatkan dan harganya yang ekonomis.¹⁷

Resorpsi tulang alveolaris dapat dihambat dengan pemberian omega-3, oleh karena terjadinya penurunan jumlah aktivitas *preosteoklas* serta osteoklas. Diet minyak ikan yang banyak mengandung n-3 PUFA khususnya EPA dan DHA dapat memberikan efek keseimbangan kalsium memperbaiki jaringan yang rusak, efek osteoblastogenesis dan aktivitas osteoblas, perubahan fungsi membran terbukti menurunkan mediator resorpsi tulang yaitu prostaglandin maupun sitokin proinflamasi yaitu IL-1 α , IL-1 β dan TNF- α . Penurunan PGE2, IL-6, IL-1 maupun TNF- α menyebabkan produksi *preosteoklas* menurun sehingga menghambat pembentukan osteoklas yang menghambat penyembuhan tulang.¹⁸ Pasta diaplikasikan secara topikal karena memiliki stabilitas yang baik, dan dapat mengabsorpsi obat lebih cepat sehingga dapat memberikan efek terapeutik yang maksimal.^{19,20}

Pada penelitian ini kerusakan tulang dibuat pada tulang femur tikus karena secara histologi tulang femur memiliki tulang trabekular yang berkembang secara baik di bawah tulang kortikal, memberikan model

yang substansial untuk aplikasi potensi dalam bidang kedokteran gigi. Hal ini merupakan alasan dipilihnya femur sebagai lokasi pembuatan *defect*.²¹

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true eksperimental laboratories*, karena merupakan suatu penelitian yang berusaha mencari pengaruh variable tertentu terhadap variabel lain dalam kondisi terkontrol secara ketat. Rancangan penelitian ini adalah rancangan acak lengkap.²² Subyek penelitian dibagi dalam 4 kelompok besar yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif), kelompok yang diberi hidroksiapatit *human paste* (kontrol positif), kelompok dengan pemberian pasta cangkang kerang darah, serta kelompok dengan pemberian kombinasi pasta cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru.

Sampel diperoleh dari populasi yang diambil secara acak (random) dan dibagi dalam 4 kelompok besar. Kemudian masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar. Pada kelompok pertama setelah mengalami penyesuaian diberi defek di *os femur* dan tidak diberi aplikasi bahan atau digunakan sebagai kontrol (K (-)). Pada kelompok kedua diberi aplikasi *human paste* atau dapat digunakan sebagai kontrol positif (K(+)). Pada kelompok ketiga diberi defek di *os femur* kemudian diaplikasikan hidroksiapatit berbentuk pasta dari *Anadara granosa* (P1) sedangkan pada kelompok keempat diberi aplikasi berbentuk kombinasi pasta dari *Anadara granosa* dan *sardinella longiceps* (P2) dengan konsentrasi 30%.

Alat-alat yang akan digunakan untuk membedah harus dilakukan sterilisasi dengan *autoclave*.²³ Tikus yang telah diaklimatisasi dan dibagi berdasarkan kelompok, dilakukan pembuatan defek pada os *femur dextra*. Pertama dilakukan anestesi dengan memberikan *ketamine* 0,1 mL dan *xylazine* 0,01 mL dicampur dan disuntikkan dengan dosis 0,11 mL/100 gr BB pada *femur dextra* (*intramuscular*).²⁴ Setelah tikus mulai tidak sadar, bulu pada bagian yang akan dilakukan defek, dicukur. Kemudian dilakukan antiseptik menggunakan *povidine iodine* 10% pada daerah sekitar tempat defek selama 5 menit.²⁵ Langkah selanjutnya dengan menggunakan pisau bedah dilakukan insisi 2 cm pada jaringan lunak (kulit dan otot) diangkat dengan menggunakan *periosteal elevator* tempat pembuatan defek. Setelah menemukan os *femur dextra*, maka dilakukan defek berupa lubang menggunakan *straight handpiece* pada kelompok 1. Dilakukan juga pada kelompok 2,3 dan 4. Dibuat lubang sedalam setengah diameter *round bur* merk Mcisinger Germany ukuran 18 (hasil trial). Lubang dibuat 5 mm dari *third trochanter femur* tikus.²⁶

Pada tikus kelompok pertama lubang bagian os femur tidak perlu diberi bahan. Pada kelompok kedua os femur diaplikasikan *human paste*. Pada kelompok ketiga diisi dengan pasta cangkang kerang darah dan pada kelompok keempat diisi dengan kombinasi pasta cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru.

Siapkan *dappen glass* dengan posisi terbalik dan letakkan hidroksiapatit pada *dappen glass*. Aduk hidroksiapatit dan darah tikus sampai keduanya tercampur. Letakkan campuran hidroksiapatit dan darah tikus pada daerah *defect* pada tikus

kelompok kedua menggunakan ekskavator yang telah dibuat hingga padat dan menutup permukaan *defect*. Metode yang sama juga dilakukan pada sediaan pasta cangkang kerang darah pada kelompok ketiga dan sediaan pasta kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru pada kelompok ke empat. Setelah pengisian selesai dilakukan, maka dilakukan penjahitan untuk menutup kulit dan jaringan lunak pada os *femur dextra* tikus. Pemberian analgesik *novalgin* 18,75mg/200gr BB yang dilarutkan dalam CMC 0,2% hingga mencapai 0,2mL diperlukan untuk mengontrol pembengkakan dan rasa sakit.²⁷ Tujuh hari setelah dilakukan *defect*, diharapkan semua tikus sudah terdapat penurunan osteoklas.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi *grafting* cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*. dengan taraf kemaknaan $p = 0,05$ dan diolah dengan program SPSS versi 20.0.

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi peningkatan data guna memperjelas penyajian hasil.

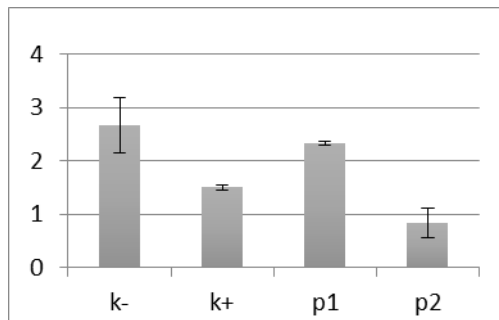
Tabel 1. Hasil mean jumlah osteoklas hari ke-7.

Kelompok	Mean $\pm$ Std Deviasi
K-	2.67 $\pm$ 1.033
K+	1.5 $\pm$ 0.09
P1	2.33 $\pm$ 0.09
P2	0.83 $\pm$ 0.54

Pada tabel 1 menunjukkan nilai mean tertinggi adalah kelompok K-

yang berarti terjadi sedikit penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*. Nilai mean pada kelompok P1 dan K+ adalah sedang pada proses *bone repair*. Sedangkan nilai mean terendah adalah kelompok P2 yang berarti banyak terjadi penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*.

Selisih Mean Jumlah Osteoklas



Gambar 1. Grafik mean jumlah osteoklas pada masing-masing kelompok perlakuan.

Hasil uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa tidak semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$). Karena data terdistribusi normal, maka akan dilanjutkan dengan uji non parametrik.

Uji *Kruskall-Wallis*

Uji *Kruskall-Wallis* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan peningkatan jumlah osteoklas pada masing-masing kelompok perlakuan hewan coba.

Tabel 2. Hasil Uji *Kruskall-Wallis*

	Sig.
Antar Grup	.085

Berdasarkan tabel tersebut, hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p > 0,05$), menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna

pada jumlah osteoklas pada setiap kelompok hewan coba.

Uji *Mann-Whitney*

Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk menentukan perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$. Berikut hasilnya pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji *Mann-Whitney*

Kelompok	K+	P1	P2
K-	.142		.621
026.			
K+		.320	.4208
P1			.048.

* Terdapat perbedaan bermakna

Penghitungan statistik dilanjutkan dengan Uji *Mann-Whitney* dan didapatkan perbedaan jumlah osteoklas yang bermakna antara kelompok K- (kontrol negatif) dengan P2 (perlakuan 2 kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru), kelompok P1 (perlakuan cangkang kerang darah) dengan P2 (perlakuan 2 kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru). Pada kelompok K- dengan K+ tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Pada kelompok K- dengan P1 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Pada kelompok K+ dengan P1 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Pada kelompok K+ dengan P2 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Perbedaan yang paling bermakna yaitu antara kelompok K- dengan P2.

PEMBAHASAN

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar karena tikus memiliki metabolisme yang hampir sama dengan manusia dan memiliki tingkat *stress* yang lebih rendah dibandingkan hewan coba lainnya.²⁸ Salah satu hormon yang dikhawatirkan dapat mempengaruhi tubuh adalah hormon estrogen pada hewan berjenis kelamin betina. Hormon estrogen ini akan mempengaruhi fungsi enzim-enzim yang berfungsi sebagai pembentukan bahan-bahan yang bersifat oksidatif kuat yang menekan proses fagositosis di dalam makrofag sehingga dapat menurunkan aktifitas fagositosisnya akibat fungsi makrofag yang menurun serta adanya pengaruh terhadap osifikasi yang dipengaruhi oleh hormon estrogen. Oleh karena itu pemilihan jenis kelamin jantan lebih diutamakan dibandingkan betina karena pertimbangan pengaruh hormonal yang dikhawatirkan akan mempengaruhi respon imun yang berakibat pada mekanisme penyembuhan.²⁹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi *grafting* cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*. Pada hasil uji statistik *Kruskall-Wallis* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Namun pada uji perbedaan antar kelompok *Mann-Whitney* terjadi perbedaan yang bermakna antara kelompok P2 dengan kelompok P1 dan antara kelompok P2 dengan kelompok K-.

Bone graft digunakan untuk merangsang pembentukan tulang dan regenerasi tulang.¹⁰ Hidroksiapatit

merupakan salah satu macam *bone graft* yang memiliki sifat biokompatibel dan bioaktifitas yang baik, merangsang terjadinya osteogenesis, non toksik, tidak bersifat antigen, tahan terhadap infeksi, ankilosis, mudah didapat, prosedur operasi minimal.⁸ Hidroksiapatit ini memiliki sifat osteokonduktif dimana molekul yang terkandung dalam hidroksiapatit terdiri dari BMP-2 yang dapat merubah sel-sel di sekitarnya menjadi osteoblas.³⁵ Peningkatan produksi BMP-2 dalam tulang akan lebih banyak mengubah sel-sel disekitarnya menjadi osteoblas yang aktif sehingga lebih banyak diproduksi ligan OPG yang akan mempengaruhi jumlah RANKL yang merupakan stimulator utama proosteoklas menjadi osteoklas. OPG dibutuhkan dalam jumlah yang lebih banyak dibanding jumlah RANKL sehingga OPG lebih banyak mengikat RANK yang akan menyebabkan penurunan jumlah osteoklas.^{6,30} Pada uji statistik kelompok (K-) dan kelompok (K+) tidak menunjukkan jumlah osteoklas yang bermakna, tapi paling tidak terdapat suatu perbedaan jumlah dari osteoklas diantara dua kelompok tersebut.

Bahan alami yang mengandung banyak kalsium yang belum termanfaatkan secara maksimal adalah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) kebanyakan hanya isinya saja yang dijadikan makanan yang kaya protein. Sementara cangkangnya dibuang menjadi limbah. Cangkang kerang darah banyak mengandung kalsium yang dapat dirubah menjadi hidroksiapatit diolah dengan menambahkan cairan fosfat yang diproses dengan cara pengadukan.¹⁵ Sama seperti hidroksiapatit yang beredar di pasaran, hidroksiapatit yang terbuat dari cangkang kerang darah

juga bersifat osteokonduksi yang akan meningkatkan produksi BMP-2 dalam tulang. Sediaan pada kelompok P1 dibuat dari bubuk cangkang kerang darah yang diproses menjadi bentuk pasta. Pada kelompok P1 memiliki jumlah osteoklas yang lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok K(-). Pada kelompok P1 memiliki jumlah osteoklas yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok K(+). Secara statistik ketiganya memiliki perbedaan jumlah osteoklas yang tidak bermakna pada proses *bone repair*. Oleh sebab itu pada penelitian ini indikator yang digunakan tidak dapat osteoklas saja untuk melihat proses *bone repair* namun juga melihat indikator lain bila perlu dilihat rasio antara osteoklas dan osteoblas.

Bone repair dapat lebih cepat terjadi dengan pemberian minyak ikan lemuru karena minyak ikan lemuru mengandung 13,7% EPA, 8,9% DHA, dan 26,8% total omega-3 dari total.³⁴ Omega-3 yang terkandung dalam minyak ikan lemuru akan mempengaruhi proses inflamasi. Pada saat proses tersebut, makrofag akan mengeluarkan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi. Antiinflamasi ini akan meningkat sehingga akan menekan proinflamasi.³² Kerusakan tulang akibat pematangan osteoklas harus segera dihambat dengan dibutuhkan lebih banyak jumlah OPG yang melindungi kerangka tulang dengan mengikat RANKL dan mencegah terjadinya pengikatan dengan RANK sebagai reseptornya sehingga menekan pembentukan osteoklas dan lebih banyak mengaktifkan osteoblas yang kemudian membentuk tulang baru.³³ Pada kelompok P2 memiliki jumlah osteoklas yang lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok P1. Secara statistik menunjukkan terdapat

perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok tersebut.

Pada kelompok K(+) dibandingkan dengan P2 (kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru) terdapat perbedaan jumlah osteoklas, pada kelompok P2 produksi osteoklas lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok K(+), tetapi pada uji statistik *Kruskal-Wallis* hasilnya belum signifikan dan pada uji *Mann-Whitney* tidak terdapat suatu perbedaan bermakna diantara dua kelompok tersebut, oleh sebab itu pada penelitian ini indikator yang digunakan tidak dapat osteoklas saja untuk melihat proses *bone repair* namun juga melihat osteoblas.

Kelompok P2 adalah kelompok kombinasi minyak ikan lemuru dan cangkang kerang darah yang memberikan hasil yang paling efektif dan signifikan dengan menunjukkan hasil rata-rata jumlah osteoklas paling kecil apabila dibandingkan dengan kelompok-kelompok lainnya. Kelompok P2 terdapat suatu perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan kelompok lainnya, sehingga kombinasi minyak ikan lemuru dan cangkang kerang darah terbukti paling efektif terhadap penurunan jumlah osteoklas pada saat *bone repair* jika dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini terbukti pada uji statistik yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok K- dengan kelompok P2 dan kelompok P1 dengan kelompok P2.

SIMPULAN

Kombinasi pasta cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) paling efektif terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair* hari ke-7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferdiansyah, Rushadi D, Rantam F A, Aulani'am. 2011. Regenerasi pada Massive Bone Defect dengan Bovine Hydroxyapatite sebagai Scaffold Mesenchymal Stem Cell. JBP, 13(3): 195-179.
2. Matoses VF, Vinarta MM, Domingo TA, Matoses IF, Liacer VJF. 2015. Treatment of multiple traumatized anterior teeth associated with an alveolar bone fracture in a 20-year-old patient: A 3-year follow up. J Clin Exp Dent, (4): e425-9.
3. Matthew P, William V, Caroline S, Zhu Z, Tejeda K. 2001. Surgical aids to Prosthodontics, Including Osseintegrated Implant in Pedlar J., Oral and Mxillofacial Surgery. Edinberg. Churchill Livingstone. P. 1.
4. Cochran DL. 2008. Inflammation and bone loss in periodontal disease. J Periodontal, 79(8): 1569-76.
5. Little N, Rogers B, Flannery M. 2011. Bone Formation, Remodelling and Healing. Basic Science Surgery, 29(4): 145-141.
6. Yustina, Ade Ratri. 2012. Peningkatan Jumlah Osteoklas pada Keradangan Periapikal Akibat Induksi Lipopolisakarida Porphyromonas Gingivalis (Suatu Penelitian Laboratories menggunakan Tikus). Universitas Airlangga. H. 1.
7. Irawati L. 2014. Hubungan Tumor Necrosis Factor-Alfa (Tnf-A) dengan Kadar Hemoglobin dan Parasitemia pada Infeksi Malaria Falciparum. Disertasi Universitas Andalas. H. 99.
8. Hardani PR, Lastianny SP, Herawati D. 2013. Pengaruh Penambalan platelet-rich plasma pada Cangkang Tulang terhadap Kadar Osteocalcin Cairan Sulkus Gingiva pada Terapi Poket Infraboni. Jurnal PDGI, 62: 82-75.
9. Dumitrescu AL. 2011. Chemicals in Surgical Periodontal Therapy 2011th. Springer. P. 1.
10. Siregar NH. 2009, Keramik Sebagai Bahan Substitusi Bone Graft. Skripsi. Universitas Sumatra Utara. H. 1.
11. Ermiza, Linda. 2012. Perbandingan Dosis Akhir Sterilisasi 15 kGy dan 25 kGy bahan Allobatan (DFDB) Pada Proses Regenerasi Tulang. Tesis. Universitas Indonesia. H. 1.
12. Wu YL. 2007. Interaction of Bone Cells with Biomimetic Hydroxyapatite Gelatin P. 1.
13. Nanocomposites Towards Developing Bone Tissue Engineering. Thesis, University of Minnesota. P. 1.
14. Newmann MG, Takei HH, Carranza FA. 2011. Clinical Periodontology 11th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders. p.672-678.
15. Awang-Hamzi AJ, Zuki ABS, Noordin MM, Jalila A, Norimah Y. 2007. Mineral Composition of the Cockle (*Anadara granosa*) Shells of West Coast of Peninsular Malaysia and It's Potential as Biomaterial for Use in Bone Repair. Journal of Animal and Veterianry Advances 6(5).p.591-594
16. Hafisko H, Ardiyanto, Trixi M. 2013. Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa* Linn) Dalam Sintesis Nanohidroksiapatit sebagai Bone Implan untuk Kerusakan Tulang. H. 1.
17. Setyono DED. 2006. Karakteristik Biologi dan Produk Kekerangan Laut. Oseana, Volume XXXI No.1, 2006.
18. Mahrus, Sumitro SB, Widodo N, Sartimbul A. 2012. The Association Between Genetic Variations and Omega-3 Production on *Sardinella* lemuru in Lombok Strait. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*.
19. Collins N and Sulewski C. 2011. Omega-3 Fatty Acid and Wound Healing. P. 1013.
20. Omar MN, Ahlam NS, Zainuddin NA, Yunus K. 2010. Ω -Fatty acid from malaysian giant snakehead (*Channa micropeltes*) fish oil. Oriental Jurnal of Chemistry, 26(1).
21. Sulatani M, Stringer AM, Bowen JM, Gibson RJ. 2012. Anti-Inflammatory Cytokines : Important Immunoregulatory Factors Contributing to Chemotherapy Induced Gastrointestinal Mucositis. Chemotherapy Research and Practie. Vol 2012.
22. Asakura T, Nagano A, Tanioka Y, Sakurai N, Sezutsu H, Kiba H. 2011. Bone Regeneration on The Epicondyle of The Femur
23. Supported by Silk Fibroin-based Scaffold : A Model System for Dental Surgery. Journal of Insect Biotechnology and Sericoloy, 80: 25-3.
24. Sudibyo. 2013. Metodologi Penelitian Aplikasi Penelitian Bidang Kesehatan (Edisi Revisi), Buku 1. Surabaya: Unesa University Press. H. 129-30, 20-19.
25. Tanideh N, Nazhvani SD, Jaber FM, Mehrabani D, Rezazadeh S, PakbazS, et al. 2011. The Healing Effect of Bioglue in Articular Cartilage Defect of Femoral Candyle in Experimental Rabbit Model.

- Iranian Red Crescent Medical Journal, 13: 636-629.
26. Fleckhell P. 2009. Laboratory Animal Anesthesia Edisi Ketiga. Elsevier. H. 187.
 27. Rokn AR, Khodadoostan MA, Ghahroudin AARR, Motahhary P, Fard MJK, Bruyn HD, Afzalifar R, Soolar E, Soolar A. 2011. Bone Formation with Two Types of Grafting Materials : A Histologic and Histomorphometric Study. Open Dent. Journal. P. 104-96.
 28. Kopschina MI, Marinowic DR, Klein CP, Araujo CA, Freitas TA, Hoff G, and Silva JB. 2012. Effect of Bone Marrow Mononuclear Cells Plus Platelet-rich Plasma in Femoral Bone Repair in Rats. Braz J. Vet. Res. Anim. Sci, Sao Paulo, 49(3): 184-179.
 29. Schmidlin PR, Nicholls F, Kruse A, Zwahlen RA, Weber FE. 2011. Evaluation of In Situ Hardening Calcium Phosphate Bone Graft Substitutes. Clin Oral Implants Res, 24(2): 157-149.
 30. Nanci A. 2008. Ten's Cate Oral Histology Development Structure and Function, edisi 7. St. Louis: Mosby Elsevier. P. 383-379, 77-57, 5.
 31. Rasyid A. 2008. Isolasi Asam Lemak tak Jenuh Majemuk Omega-3 dari Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). Prosiding Seminar Iptek Kelautan Nasional. Jakarta: Pusat Penelitian Oseanografi LIPI.
 32. Riani. 2012. Evaluasi Radiografis Tinggi dan Densitas Tulang Alveolar pada Terapi Periodontitis Dengan Allograft (DFDBA) Dibandingkan Xenograft. Tesis, Universitas Indonesia: Jakarta. H. 17-15, 12-10.
 33. Awang-Hamzi AJ, Zuki ABS, Noordin MM, Jalila A, Norimah Y, 2007. Mineral Composition of the Cockle (*Anadara granosa*) Shells of West Coast of Peninsular Malaysia and It's Potential as Biomaterial for Use in Bone Repair. Journal of Animal and Veterinary Advances 6(5): 594-591.
 34. Marie B E N. 2003. The immune system innate and adaptive body defenses. *Humans anatomy and physiology*. New York : Benjamin Cummings. Boyce BF and Xing L. 2007. Biology of RANK, RANKL and Osteoprotegerin. Arthritis Research and Therapy. (9): 7-1.
 35. Estiasih T. 2009, Minyak Ikan Teknologi dan Penerapannya untuk Pangan dan Kesehatan. Yogyakarta: Graha Ilmu.