



**EFEK IRIGASI EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) PADA
SALURAN AKAR TIKUS WISTAR TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG
JARINGAN PERIAPIKAL**

SKRIPSI

Oleh

Berliana Calpika Febriyanti

151610101102

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**EFEK IRIGASI EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) PADA
SALURAN AKAR TIKUS WISTAR TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG
JARINGAN PERIAPIKAL**

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

Berliana Calpika Febriyanti

151610101102

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas segala limpahan karunia dan rahmat-Nya yang teramat besar;
2. Nabi Muhammad SAW, atas segala tuntunan dan kasihnya kepada seluruh umatnya;
3. Ayahanda Bambang Suharsono dan Ibunda Puspita Rini atas doa dan dukungannya;
4. Adikku Berliana Tiara Sari dan Berlianta Rahmadhany atas doa dan dukungannya;
5. Dosen pembimbing dan dosen penguji atas dukungannya;
6. Guru-guruku sejak bangku taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi, terima kasih telah membimbing dan memberi ilmu;
7. Teman-teman angkatan 2015, yang telah berjuang bersama-sama di almamater tercinta ini;
8. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang selalu saya banggakan;

MOTO

“Yakinlah ada sesuatu yang menantimu selepas banyak kesabaran (yang kau jalani) yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa pedihnya rasa sakit.”

(Ali bin Abi Thalib)

"Life is a carousel. It goes up and down. All you gotta do is just stay on."

(Pharrel Williams)

“Be patient with yourself. You are growing stronger every day. The weight of the world will become lighter... and you will begin to shine brighter. Don't give up.”

(Robert Tew)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Berliana Calpika Febriyanti

NIM : 151610101102

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis yang berjudul “Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar Terhadap Jumlah Sel Makrofag Jaringan Periapikal” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan hasil karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 14 Mei 2019

Yang menyatakan,

Berliana Calpika Febriyanti

NIM 151610101102

SKRIPSI

**EFEK IRIGASI EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*) PADA
SALURAN AKAR TIKUS WISTAR TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG
JARINGAN PERIPIKAL**

Oleh

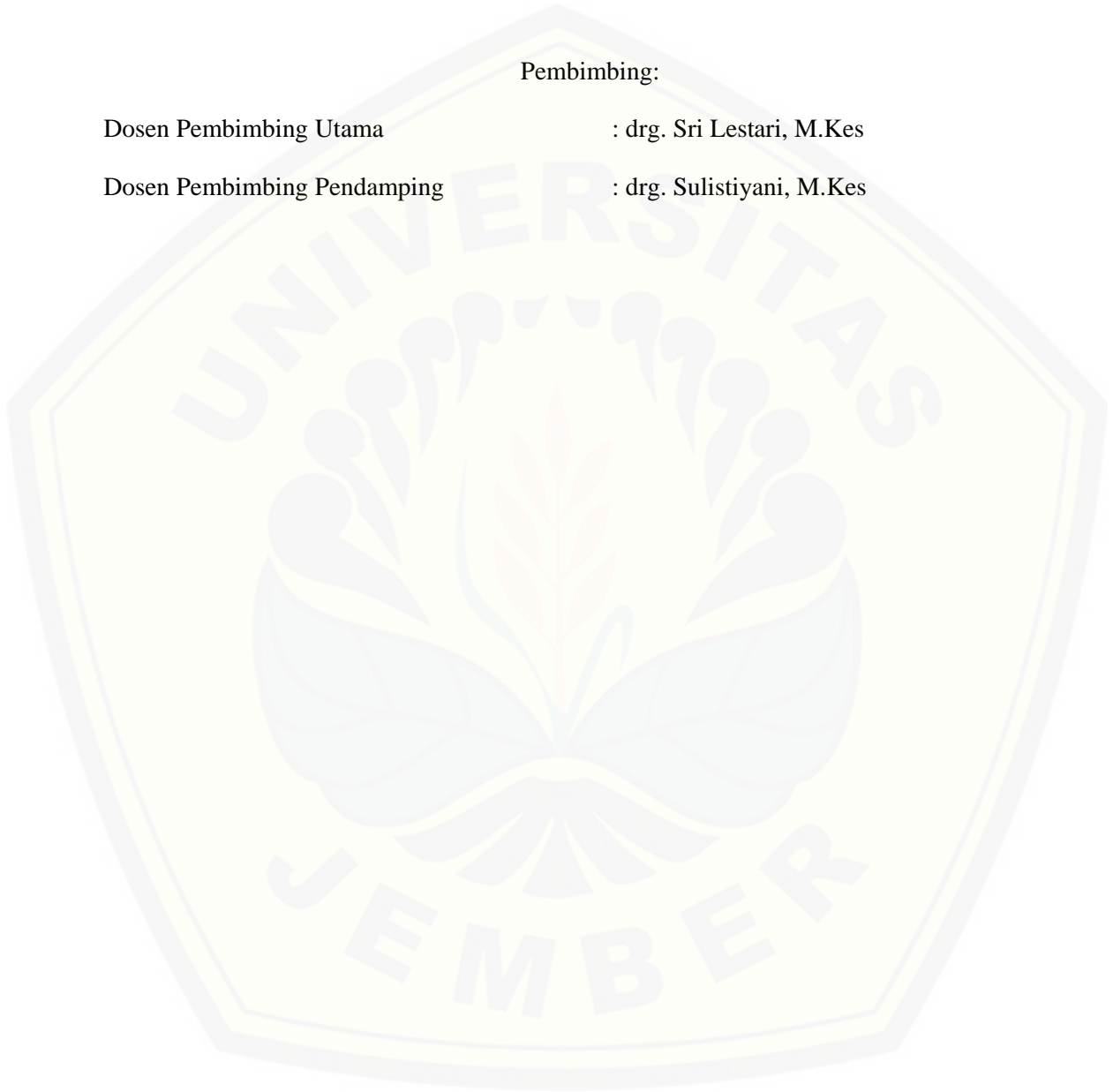
Berliana Calpika Febriyanti

NIM 151610101102

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Sri Lestari, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Sulistiyani, M.Kes



PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar Terhadap Jumlah Sel Makrofag Jaringan Periapikal” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 18 Juni 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Erawati Wulandari, M.Kes

drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Sri Lestari, M.Kes

drg. Sulistiyani, M.Kes

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,



RINGKASAN

Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar Terhadap Jumlah Sel Makrofag Jaringan Periapikal; Berliana Calpika Febriyanti, 151610101102; 2019; 65 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Keberhasilan dari perawatan saluran akar dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain preparasi saluran akar meliputi pembersihan dan pembentukan, sterilisasi yang meliputi irigasi dan desinfeksi, serta pengisian saluran akar (*triad endodontic*). Desinfeksi secara keseluruhan dalam saluran akar sulit dicapai karena anatomi ruang pulpa yang kompleks dari saluran akar. Larutan irigasi yang umum digunakan adalah NaOCl 2,5% dapat melarutkan timbunan endapan jaringan keras atau lunak terinfeksi pada saluran akar, mempunyai aktivitas antimikroba. Kekurangannya adalah bersifat iritatif dan dapat menimbulkan rasa nyeri bila masuk ke jaringan periapikal. Inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh sebagai respon jaringan terhadap cedera dan gangguan oleh faktor eksternal. Diperlukan bahan irigasi alami yang mampu mencegah reaksi inflamasi pada jaringan periapikal gigi. Bahan irigasi ekstrak kulit manggis memiliki kandungan *xanthone* yang dapat menghambat proses inflamasi, dengan menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase, sedangkan *flavonoid* berperan dalam menghambat pelepasan sintesis prostaglandin. Dengan terhambatnya kedua enzim tersebut diharapkan akan mencegah proses inflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji efek irigasi ekstrak kulit manggis pada saluran akar tikus wistar terhadap jumlah sel makrofag jaringan periapikal.

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post-test only control group*. Sampel yang digunakan adalah tikus wistar pada gigi molar 1 rahang bawah kanan. Gigi tikus dilakukan preparasi saluran akar menggunakan *file* sampai perforasi foramen apikal. Selanjutnya diirigasi dengan ekstrak kulit manggis 80% dan 100%, NaOCl (kontrol positif), dan aquadest (kontrol negatif) sampai bahan menembus jaringan periapikal. Setelah perlakuan dilakukan didekaputasi dan pemrosesan pembuatan sediaan jaringan dan diberi pewarnaan hemaktosilin dan eosin. Pengamatan secara mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada jaringan periapikal pada hari ke-1, 3, dan 7.

Rerata jumlah sel makrofag pada hari 1, 3, 7 secara berurutan yang tertinggi adalah NaOCl selanjutnya EKM 100%, dan terendah adalah EKM 80%. Semakin sedikit jumlah sel makrofag, bahan tersebut semakin baik dan efektif dalam mengurangi respon inflamasi. Rerata jumlah sel makrofag meningkat pada hari ke-3 dan menurun pada hari ke-7. Analisa data memperoleh perbedaan antar kelompok perlakuan diatas tetapi tidak signifikan dengan uji LSD (*Least Significant Different*).

Menurut penelitian yang dilaksanakan, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian bahan irigasi ekstrak kulit manggis 80% dan 100% berpotensi mencegah terpicu jumlah sel makrofag pada jaringan periapikal gigi. Jumlah sel makrofag pada kelompok hari ke 7 terjadi penurunan dibandingkan kelompok hari ke-3. Bahan irigasi alternatif ekstrak kulit manggis lebih efektif dibandingkan bahan kimia NaOCl.

Hasil penelitian ini dapat diketahui adanya pengaruh bahan irigasi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap jumlah makrofag pada jaringan periapikal pada gigi tikus wistar jantan. Paparan bahan irigasi ekstrak kulit manggis 80% dan 100% dapat menurunkan jumlah makrofag yang merupakan efek sinergisme dari senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam bahan irigasi ekstrak kulit manggis. Kandungan-kandungan tersebut berperan sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Penurunan jumlah makrofag ini menunjukkan bahwa kemungkinan kerusakan jaringan normal akibat makrofag berkurang sehingga proses penyembuhan akan berjalan lebih baik.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Respon Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar Terhadap Jumlah Sel Makrofag Jaringan Periapikal”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Sri Lestari, M.Kes dan drg. Sulistiyani, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, perhatian, dan kesabaran selama penyusunan skripsi ini;
3. drg. Erawati Wulandari, M.Kes, selaku Dosen Penguji Ketua yang telah bersedia menguji dan memberikan masukan hingga terselesaikannya skripsi ini;
4. drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes, selaku Dosen Penguji Anggota sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan bimbingan, masukan, dan motivasi kepada penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ayahanda Bambang Suharsono dan Ibunda Puspita Rini atas doa dan dukungannya;
6. Adikku Berliana Tiara Sari dan Berlianta Rahmadhany atas doa dan dukungannya;
7. Kakek, nenek, dan semua saudara-saudara yang telah memberikan doa dan semangatnya selama ini;
8. Seluruh staf di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang membantu dalam penyelesaian administrasi penulisan skripsi ini;
9. Mbak Parka Selaku teknisi Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember, Mas Agus selaku teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Bu Wahyu selaku teknisi Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas

Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah banyak membantu selama penelitian berlangsung;

10. Teman segalanya Hofifatus Zahroh, Anjelia Gelli B., Devina Yulia P., Kevin Nathaniel, dan Hendito Khairiansyah atas doa, dukungan dan semangatnya;
11. Teman-teman dari Basket Universitas Jember, Mas Purbo, Ery, Wahyu, Juan, Fariz, Agik, Dito, Kevin, Daus, Yustiar, Wafa, Marsil, seluruh pemain dan pengurus UKM Basket 2018;
12. Teman skripsi ekstrak kulit manggis, Ratna Dewandari. Terima kasih atas kerjasama yang luar biasa;
13. Teman-teman seperjuangan FKG Universitas Jember angkatan 2015. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan doa kalian selama ini;
14. Semua pihak yang telah membantu baik moril, materiil, serta memberikan kritik dan saran selama penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu;

Karya ini masih jauh dari sempurna, untuk ini penulis mengharapkan saran dan kritikan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat menjadi lebih baik. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi lebih untuk kemajuan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang

Jember, 14 Mei 2019

Penulis

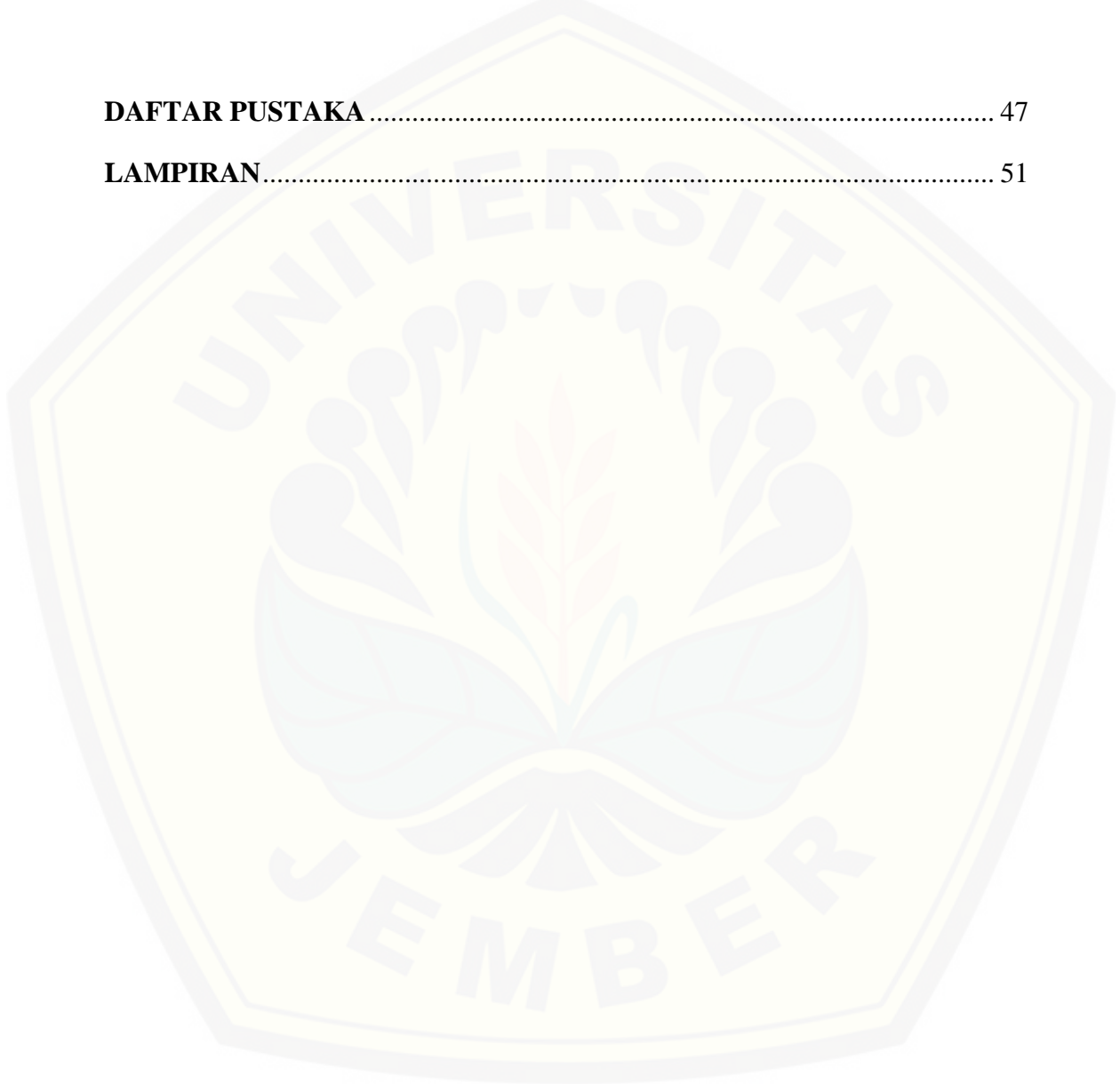
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bahan Irigasi Saluran Akar	5
2.1.1 Syarat Ideal Bahan Irigasi	5

2.1.2 Fungsi Bahan Irigasi	6
2.2 Sodium Hipoklorit.....	6
2.3 Teknik Irigasi Saluran Akar	7
2.4 Inflamasi.....	8
2.4.1 Tanda-Tanda Inflamasi	8
2.4.2 Inflamasi Akut	8
2.4.3 Inflamasi Kronis	9
2.5 Makrofag.....	9
2.6 Buah Manggis	10
2.6.1 Klasifikasi Buah Manggis.....	11
2.6.2 Kandungan Kulit Manggis.....	11
2.6.3 Manfaat Buah Manggis.....	13
2.7 Kerangka Konsep Penelitian.....	15
2.7.1 Penjelasan Kerangka Konsep.....	16
2.8 Hipotesis	16
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	17
3.1 Jenis Penelitian	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2.1 Tempat Penelitian	17
3.2.2 Waktu Penelitian.....	17
3.3 Sampel Penelitian	17
3.3.1 Kriteria Sampel Penelitian	17
3.3.2 Besar Sampel	18

3.3.3 Pengelompokan Sampel.....	19
3.4 Variabel Penelitian.....	20
3.4.1 Variabel Bebas	20
3.4.2 Variabel Terikat.....	20
3.4.3 Variabel Terkendali.....	20
3.5 Definisi Operasional.....	20
3.5.1 Ekstrak Kulit Buah Manggis	20
3.5.2 Inflamasi.....	21
3.5.3 Tikus Wistar Jantan.....	21
3.5.4 Daerah Pengambilan.....	21
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
3.6.1 Alat Penelitian	21
3.6.2 Bahan Penelitian.....	23
3.7 Prosedur Penelitian.....	23
3.7.1 Tahap Persiapan	23
3.7.2 Tahap Perlakuan.....	27
3.7.3 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Jaringan.....	32
3.7.4 Perhitungan Makrofag.....	34
3.8 Analisis Data.....	34
3.9 Alur Penelitian.....	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Hasil Penelitian.....	36
4.2 Analisis Data.....	39
4.3 Pembahasan.....	42

BAB 5. PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	51



DAFTAR TABEL

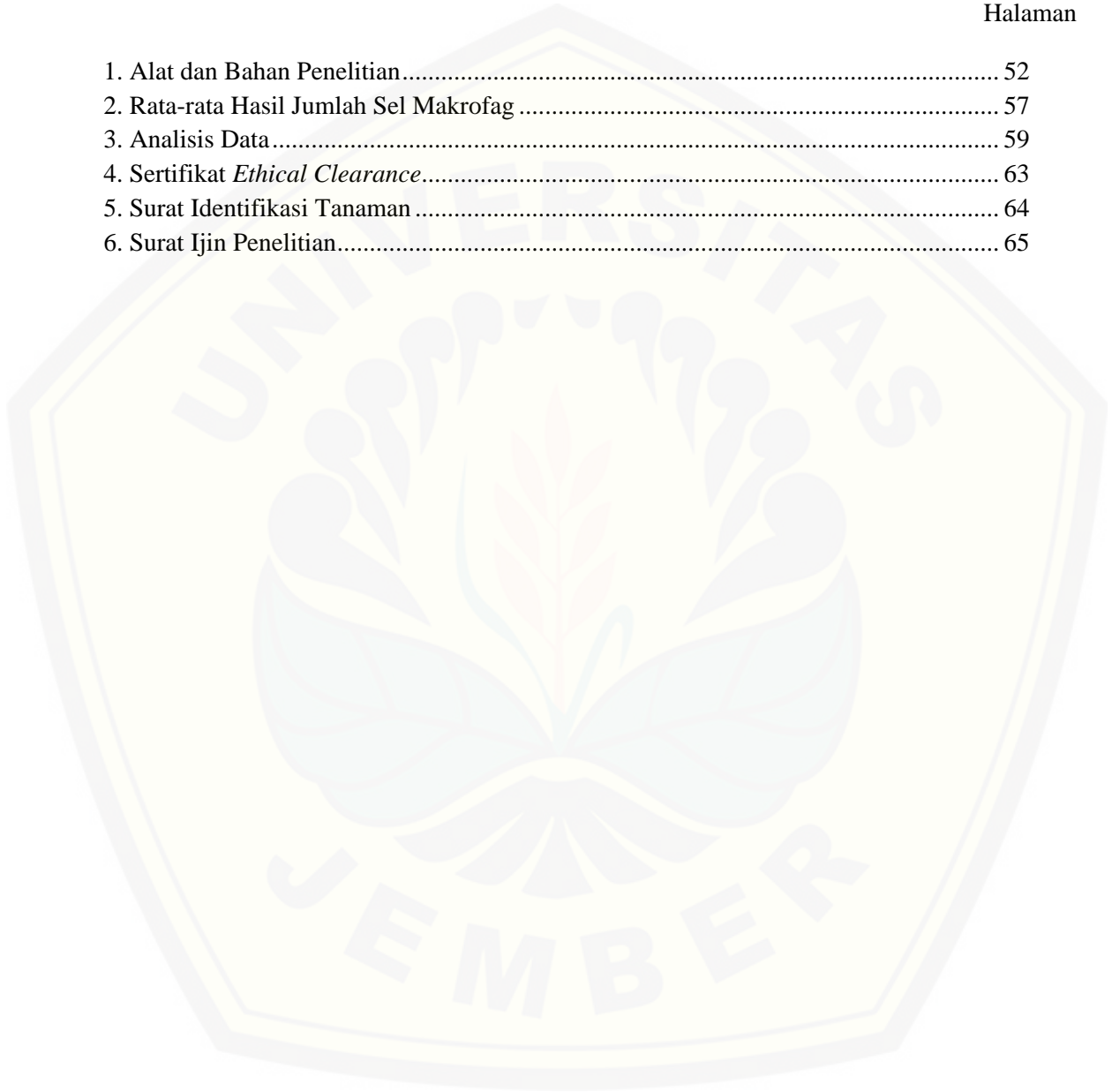
	Halaman
4.1 Rata-rata sel makrofag	38
4.2 Hasil uji normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	41
4.3 Hasil uji homogenitas <i>Levene Test</i>	42
4.4 Hasil uji <i>Two Way Anova</i>	42
4.5 Hasil uji LSD (<i>Least Significant Difference</i>).....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambaran histologis sel makrofag.....	11
2.2 Buah Manggis (<i>Garcinia mangostana L.</i>)	12
2.3 Xanthone	13
3.1 Potongan kulit lunak manggis.....	25
3.2 Serbuk kulit manggis yang sudah halus	25
3.3 Pencampuran bubuk simplisia	26
3.4 Penyaringan serbuk dengan <i>rotary evaporator</i>	27
3.5 Perlakuan anestesi secara <i>im</i> pada kaki tikus	29
3.6 Memosisikan tikus pada dental rat chair	29
3.7 Proses pengeburan <i>access opening</i> gigi tikus	29
3.8 Gigi tikus diekstripasi menggunakan jarum ekstripasi	30
3.9 Irigasi dan pengeringan daerah kerja	30
3.10 Preparasi gigi tikus EKM100 menggunakan K-File	31
3.11 Preparasi gigi tikus EKM80 menggunakan K-File	31
3.12 Preparasi gigi tikus NaOCl menggunakan K-File.....	32
3.13 Preparasi gigi tikus aquadest menggunakan K-File	32
3.14 Proses anestesi tikus sebelum dekaputasi	33
3.15 Pemotongan jaringan gigi M1-M3 kanan RB	33
3.16 Fiksasi dan dekalsifikasi jaringan	34
3.17 Preparat jaringan	35
4.1 Diagram batang rata-rata jumlah sel makrofag.....	39
4.2 Gambaran histologis gigi dan jaringan periapikal	39
4.3 Gambaran histologis sel makrofag hari ke-1	40
4.4 Gambaran histologis sel makrofag hari ke-3	40
4.5 Gambaran histologis sel makrofag hari ke-7	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	52
2. Rata-rata Hasil Jumlah Sel Makrofag	57
3. Analisis Data.....	59
4. Sertifikat <i>Ethical Clearance</i>	63
5. Surat Identifikasi Tanaman	64
6. Surat Ijin Penelitian.....	65



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pulpa gigi yang terinfeksi harus dilakukan perawatan saluran akar. Perawatan saluran akar adalah pengambilan seluruh jaringan pulpa yang terinfeksi. Perawatan saluran akar merupakan perawatan yang bertujuan untuk mengurangi rasa sakit dan mengontrol infeksi dari pulpa dan jaringan periapikal sekitarnya serta mengembalikan keadaan gigi yang sakit agar dapat diterima oleh jaringan sekitarnya. Keberhasilan dari perawatan saluran akar dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain preparasi saluran akar meliputi pembersihan dan pembentukan, sterilisasi yang meliputi irigasi dan desinfeksi, serta pengisian saluran akar (*triad endodontic*). Desinfeksi secara keseluruhan dalam saluran akar sulit dicapai karena anatomi ruang pulpa yang kompleks dari saluran akar. Oleh karena itu, macam-macam bahan irigasi digunakan selama perawatan saluran akar (Noviyanti dkk., 2013).

Keberhasilan irigasi saluran akar bergantung pada volume irigan yang dipakai, jangka waktu lamanya irigan berkontak dengan jaringan, daerah irigasi yang terkena irigan, kedalaman penetrasi jarum irigasi, besar dan tipe jarum irigasi, dan juga besarnya tekanan pada saat perlakuan irigasi. Irigasi saluran akar merupakan tahapan penting dalam menunjang keberhasilan perawatan saluran akar. Karakteristik ideal suatu bahan irigasi adalah biokompatibel, mempunyai daya antibakteri, sebagai pelumas dapat melarutkan jaringan, dapat membuang *smear layer* dan tidak mempengaruhi sifat fisik dentin. Bahan irigasi yang umum digunakan antara lain salin, sodium hipklorit (NaOCl), dan deterjen seperti klorheksidin (CHX), asam sitrat, dan *Ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA) (Nugraheni, 2012). Kekurangan larutan irigasi yang beredar dipasaran bersifat toksik dan dapat menimbulkan rasa nyeri bila masuk ke jaringan periapikal (Tanumihardja, 2010).

Salah satu bahan irigasi kimia yang sering digunakan adalah Sodium Hipoklorit (NaOCl). NaOCl menjadi pilihan dalam mengirigasi saluran akar karena mekanisme kerja antimikroba yang efektif dalam mengurangi jumlah bakteri dalam

saluran akar. NaOCl mempunyai kekurangan bersifat toksik pada jaringan vital apabila digunakan dalam konsentrasi setinggi 5,25% (Arifah, 2009). Konsentrasi NaOCl yang sering digunakan dalam kedokteran gigi adalah 0,5%, 1%, 2,5%, dan 5,2% (Mulyawati, 2011). Penetrasi larutan NaOCl ke arah jaringan periapikal dapat menyebabkan rasa sakit, ulserasi, hemolysis, odema serta pembengkakan (Arifah, 2009). NaOCl juga memiliki karakteristik yang tidak diinginkan seperti potensi alergi, bau dan rasa yang tidak enak saat dilakukan irigasi pada saluran akar (Prabhakar dkk., 2010).

Masuknya NaOCl menuju jaringan periapikal adalah salah satu faktor penyebab terjadinya peradangan atau inflamasi periapikal. Peradangan atau inflamasi didefinisikan sebagai reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera dan melibatkan lebih banyak mediator dibanding respon imun. Inflamasi merupakan respon fisiologis terhadap berbagai rangsangan seperti infeksi dan cedera jaringan. Inflamasi dapat lokal, sistemik, akut, dan kronis yang menimbulkan kelainan patologis (Baratawidjaja dkk., 2013).

Makrofag adalah salah satu sel dalam proses inflamasi yang berfungsi sebagai *Antigen Presenting Cell* atau APC yang dapat menelan, memproses, menyimpan antigen dan menyampaikan informasi pada limfosit dan sel plasma. Selain itu sel ini dapat mengeluarkan faktor-faktor seperti TNF- α , IL-1, dan faktor perangsang koloni granulosit-monosit, faktor perangsang koloni granulosit dan perangsang koloni monosit untuk menstimulasi produksi monosit dan granulosit di sumsum tulang yang nantinya berubah menjadi makrofag dan membersihkan daerah yang meradang dari zat toksik, agen infeksius serta debris jaringan dengan cara melakukan aksi fagositosis (Guyton, 2008).

Penelitian Yunita (2015) menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis konsentrasi 100% dapat menghilangkan *smear layer* pada dentin mahkota dan Khasanah (2015) menyatakan bahwa ekstrak kulit manggis konsentrasi 100% dapat menghilangkan *smear layer* pada dinding saluran akar. Selain itu, Safira (2016) menggunakan uji sitotoksisitas dan biokompatibel ekstrak kulit manggis 80% dan

100% terbukti memenuhi syarat untuk dapat diterima dalam jaringan dan sebagai alternative bahan irigasi saluran akar, dengan menguji kultur sel fibroblast dibandingkan dengan NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%. Penelitian Abadhia (2017) menunjukkan uji antibakteri secara klinis pada ekstrak kulit manggis 80% dan 100% memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan koloni bakteri dalam gigi tikus yang terinfeksi.

Ekstrak kulit manggis memiliki berbagai kandungan seperti *xanthone*, *flavonoid*, *tanin*, dan *mangostin*. Kandungan *xanthone* pada bahan irigasi alami dalam menghambat terjadinya proses inflamasi yaitu dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX) sedangkan *flavonoid* berperan dalam menghambat enzim lipooksigenase (LOX) dalam pelepasan asam arakidonat (Gokaraju dkk., 2009). Dengan dihambatnya kedua enzim tersebut diharapkan akan terjadi penurunan proses inflamasi yang ditandai dengan penurunan sensasi nyeri, demam, reaksi-reaksi peradangan serta penurunan sel-sel radang (Putra, 2013). Mengingat efek toksik dari bahan yang biasa digunakan, dilakukan penelitian bahan irigasi alami dengan menggunakan ekstrak kulit manggis untuk mengetahui efek toksik pada jaringan periapikal. Penulis ingin menguji secara laboratoris untuk mengetahui efek irigasi ekstrak kulit buah manggis pada konsentrasi 80% dan 100% (*Garcinia mangostana* L.) pada saluran akar tikus wistar terhadap jumlah sel makrofag jaringan periapikal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Bagaimana efek irigasi ekstrak kulit manggis terhadap jumlah sel makrofag di jaringan periapikal tikus wistar?
2. Bagaimana perbandingan jumlah sel makrofag antara bahan irigasi ekstrak kulit manggis 80% dan 100% dengan bahan NaOCl 2,5% pada jaringan periapikal tikus wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek bahan irigasi alami ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap jumlah sel makrofag di jaringan periapikal tikus wistar (*rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Membandingkan jumlah sel makrofag tikus yang diberi bahan irigasi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) 80% dan 100% dengan jumlah sel makrofag pada tikus yang diberi bahan irigasi NaOCl 2,5% di jaringan periapikal.

1.4 Manfaat Penelitian

Setelah pelaksanaan penelitian ini diharapkan akan memberikan manfaat antara lain :

1. Dapat memberikan informasi pada tenaga kesehatan dan digunakan sebagai bahan pertimbangan mengenai efek ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap jumlah sel makrofag di jaringan periapikal pada tikus wistar.
2. Dapat memberikan informasi kepada tenaga kesehatan khususnya dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut dengan cara memanfaatkan bahan alami ekstrak kulit manggis.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bahan Irigasi Saluran Akar

Irigasi saluran akar merupakan tahapan penting dalam menunjang keberhasilan perawatan saluran akar, karena irigasi memudahkan pengeluaran jaringan nekrotik, mikroorganisme dan serpihan dentin dari saluran akar yang terinfeksi dengan cara bilasan larutan irigasi. Hal ini merupakan salah satu dari prinsip perawatan endodontik, yaitu *triad endodontic* (Noviyanti dkk., 2013). Disamping itu, larutan irigasi juga membilas dan melarutkan timbunan endapan jaringan keras atau lunak terinfeksi di bagian apikal dan jaringan periapikal. Selain memiliki aktivitas antimikroba, larutan irigasi juga bersifat toksik dan dapat menimbulkan rasa nyeri bila masuk ke jaringan periapikal (Tanumihardja, 2010).

Beberapa macam larutan irigasi saluran akar yang saat ini banyak digunakan adalah larutan sodium hipoklorit (NaOCl), hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%, larutan kelator/*ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) 15%, *mixture of tetracycline, an acid and a detergent* (MTAD), dan klorheksidin (Tanumihardja, 2010; Nugraheni, 2012).

2.1.1 Syarat Ideal Bahan Irigasi

Menurut Arifah (2009) syarat ideal bagi suatu bahan irigasi adalah:

1. Pelarut jaringan atau debris. Pada daerah yang tidak terjangkau instrument, irigan harus dapat melarutkan atau melepaskan sisa-sisa jaringan lunak atau keras supaya dapat dikeluarkan.
2. Toksisitas rendah. Bahan irigasi tidak boleh memasuki jaringan periradikuler.
3. Tegangan permukaan rendah. Hal ini memungkinkan bahan irigasi untuk mengalir ke daerah yang tidak terjangkau. Alkohol yang ditambahkan pada bahan irigasi akan menurunkan tegangan permukaan penetrasi, apakah hal ini dapat meningkatkan kemampuan pembersihan masih belum diketahui.
4. Pelumas. Membantu alat untuk mudah masuk ke dalam saluran akar.
5. Sterilisasi (paling tidak bersifat desinfeksi)

6. Membuang *smear layer*. *Smear layer* adalah lapisan yang terdiri dari kristal mikro dan partikel debris organik yang menyebar di seluruh dinding saluran akar setelah preparasi.
7. Faktor lain. Faktor lainnya adalah mudah didapat, harga terjangkau, mudah digunakan, mudah disimpan dan jangka pemakaian bahan cukup lama. Tambahan lain yang juga penting adalah bahan irigasi tidak mudah dinetralisir di saluran akar sehingga efektivitasnya dapat dipertahankan.

2.1.2 Fungsi Bahan Irigasi

Menurut Mulyawati (2011) fungsi bahan irigasi adalah sebagai berikut :

- a) Mendesinfeksi saluran akar.
- b) Sebagai pelumas instrument pada saat preparasi saluran akar.
- c) Melarutkan atau membilas debris terutama organik dan anorganik yang ada dalam saluran akar dan daerah yang tersembunyi karena daerah ini dapat menjadi tempat bakteri berkembang biak.

2.2 Sodium Hipoklorit

Sodium hipoklorit (NaOCl) adalah salah satu larutan irigasi yang umum digunakan dalam praktek dokter gigi dan memiliki kemampuan melarutkan komponen organik, debris, sifat antibakteri, namun dapat menyebabkan toksik terhadap jaringan jika digunakan dalam konsentrasi dan volume yang besar. Sodium hipoklorit memecah rantai peptide yang menyebabkan degradasi material organik dan kolagen pada dentin sehingga mempengaruhi sifat mekanis dentin dan kondisi ini sangat bergantung pada lama waktu dentin terpapar dan konsentrasi yang digunakan. Efektifitas NaOCl dapat bertambah bila digunakan bersama dengan *chelating agent* (Ramadhiani dkk., 2016).

Kelebihan sodium hipoklorit adalah mampu melarutkan jaringan pulpa vital dan nekrotik, membilas debris keluar dari saluran akar, bersifat anti mikroba dengan spektrum luas, sporisid, virusid, pelumas, harganya ekonomis, dan mudah diperoleh. Akan tetapi larutan sodium hipoklorit dapat menyebabkan iritasi bila terdorong ke

jaringan periapikal, tidak mampu melarutkan larutan anorganik, menyebabkan bercak putih bila mengenai pakaian pasien dan aromanya tidak enak (Arifah, 2009).

Sodium hipoklorit terurai menjadi Na^+ dan OCl^- , hipoklorit, yang membentuk kesetimbangan dengan asam hipoklorit, HOCl .



Reaksi di atas menunjukkan peran sodium hipoklorit sebagai pelarut organik dan lemak melalui reaksi saponifikasi, menghasilkan sabun dan gliserol. Sabun membuat tegangan permukaan berkurang, yang memudahkan pelepasan debris dari dinding saluran akar. Asam hipoklorus (HOCl) dan ion hipoklorit (OCl^-) yang terbentuk dalam reaksi tersebut, bila berkontak dengan jaringan organik, melepaskan klorin, yang merupakan zat aktif dari larutan sodium hipoklorit. Klorin mampu merusak metabolisme sel bakteri dengan menghambat enzim bakteri, merusak sintesis DNA dan menghidrolisis asam amino orbita (Tanumihardja, 2010).

Toksisitas terhadap jaringan sehat merupakan salah satu kelemahan larutan sodium hipoklorit dan dilaporkan meningkat sesuai dengan konsentrasinya. Beberapa laporan kasus menunjukkan berbagai akibat yang ditimbulkan oleh sodium hipoklorit, yang tidak sengaja masuk ke dalam jaringan periapikal. Umumnya, gejala yang timbul adalah sakit spontan yang hebat, *oedema* dari jaringan lunak sekitarnya, dapat meluas ke separuh wajah, bibir atas dan daerah infra orbita (Tanumihardja, 2010).

2.3 Teknik Irigasi Saluran Akar

Teknik irigasi yang dilakukan adalah sederhana. Tindakan irigasi dilakukan dengan menggunakan *disposable syringe*. Jarum harus dibengkokkan menjadi sudut tumpul untuk mencapai saluran akar gigi anterior atau posterior. Jarum dimasukkan sebagian ke dalam saluran dan harus mempunyai ruang yang cukup antara jarum dan dinding saluran yang memungkinkan pengaliran kembali larutan dan menghindari penekanan ke dalam jaringan periapikal (Grossman dkk., 2014)

Membersihkan dan membentuk saluran akar larutan disemprotkan dengan hati-hati, sedikit atau tanpa tekanan serta harus diperhatikan agar saluran selalu penuh

dengan larutan baru. Larutan irigasi yang merembes keluar diabsorpsi dengan kain kasa atau diaspirasi. Segera setelah preparasi, saluran akar harus dikeringkan dengan memakai *paper point* pada pengeringan terakhir (Grossman dkk., 2014).

2.4 Inflamasi

Inflamasi merupakan mekanis pertahanan tubuh sebagai respon jaringan terhadap cedera dan gangguan oleh faktor eksternal. Tujuan inflamasi adalah menghilangkan atau menghancurkan iritan dan memperbaiki jaringan yang rusak. Inflamasi membawa pada daerah inflamasi sel-sel fagositik untuk mencerna bakteri atau debris seluler, antibody untuk mengenal, menyerang, menghancurkan bahan asing, edema, atau cairan untuk mencairkan dan menetralkan iritan, dan fibrin untuk membatasi perluasan inflamasi (Prमितaningastuti dkk., 2017)

2.4.1 Tanda-Tanda Inflamasi

Lima ciri khas dari inflamasi, dikenal sebagai tanda-tanda utama inflamasi, adalah kemerahan, panas, pembengkakan (edema), nyeri dan hilangnya fungsi. Dua tahap inflamasi adalah tahap vascular yang terjadi 10-15 menit setelah terjadinya cedera. Terdapat beberapa mekanisme yang digunakan untuk menekan proses peradangan atau inflamasi, salah satunya dengan menghambat enzim siklooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi prostaglandin dan enzim lipooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi leukotriene. Leukotriene berperan penting terhadap peningkatan migrasi leukosit, sehingga terjadi pula peningkatan jumlah monosit yang nantinya akan berubah menjadi makrofag (Mansjoer, 2013).

2.4.2 Inflamasi Akut

Pada umumnya respon inflamasi akut menunjukkan awalan yang cepat dan berlangsung sebentar. Inflamasi akut biasanya disertai reaksi sistemik yang disebut respon fase akut yang ditandai oleh perubahan cepat dalam kadar beberapa protein plasma. Reaksi dapat menimbulkan reaksi berantai dan rumit yang berdampak

terjadinya vasodilatasi, kebocoran vaskulator mikro dengan eksudasi cairan dan protein serta infiltrasi lokal sel-sel inflamasi (Baratawidjaja dkk., 2010).

Inflamasi akut merupakan respon khas imunitas nonspesifik. Inflamasi akut adalah respon cepat terhadap kerusakan sel, berlangsung cepat (beberapa jam – hari) dan dipacu oleh sejumlah sebab seperti kerusakan kimiawi dan termal serta infeksi. Beberapa jam setelah luka, terjadi radang akut invasi sel inflamasi pada jaringan luka. Sel tersebut adalah sel neutrofil pada infiltrasi radang dengan waktu 6 sampai 24 jam pertama akan bermigrasi menuju daerah luka dan setelah 24-48 jam terjadi setelah transisi sel neutrofil menjadi sel monosit atau makrofag yang merupakan sel paling dominan pada fase inflamasi. Makrofag berfungsi untuk memfagositosis patogen dan sel mati pada tempat jejas, makrofag juga menginduksi proliferasi fibroblast dan produksi matriks ekstraseluler pada hari ke-2 (Nucera dkk., 2010).

2.4.3 Inflamasi Kronis

Inflamasi kronis terjadi apabila proses inflamasi akut gagal, bila antigen menetap. Inflamasi akut berbeda dengan inflamasi kronis. Antigen yang persisten menimbulkan aktivasi dan akumulasi makrofag yang terus menerus. Hal ini menimbulkan terbentuknya sel epiteloid (makrofag yang sedikit diubah) dan granuloma TNF diperlukan untuk pembentukan dan mempertahankan granuloma. Inflamasi kronis dapat menimbulkan kerusakan jaringan yang tergantung dari bahan pemicu, tempat terjadinya reaksi dan respon imun yang dominan. Bila inflamasi terkontrol, neutrophil tidak dikerahkan lagi dan berdegenerasi. Selanjutnya dikerahkan sel mononuclear seperti monosit, makrofag, limfosit dan sel plasma yang memberikan gambaran patologik dari inflamasi kronis (Baratawidjaja dkk., 2010).

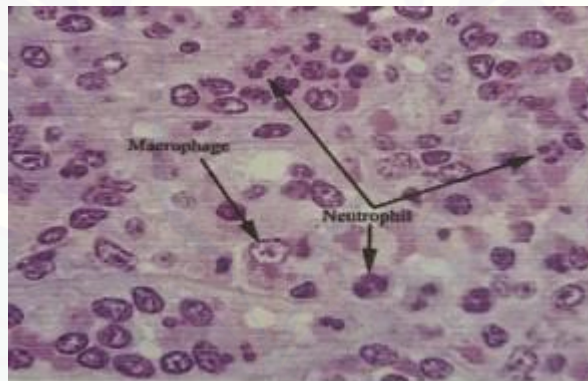
2.5 Makrofag

Makrofag adalah sel yang berperan penting dalam sistem imunitas tubuh melawan patogen. Salah satu peran utama makrofag dalam sistem imunitas alami

adalah fungsi fagositosis, yang bertujuan untuk mengeliminasi partikel ekstraseluler, sel yang rusak atau mati, dan juga bakteri patogen (Haniastuti, 2009).

Makrofag merupakan sel yang dominan pada radang kronik dan merupakan sel jaringan yang berasal dari monosit darah yang beredar dan kemudian keluar ke aliran darah. Makrofag mulai muncul pada 24-48 jam setelah terjadinya jejas dan puncaknya pada hari ke-3. Penurunan jumlah makrofag pada hari ke-5 sampai hari ke-7 (Budi, 2017).

Makrofag dalam jumlah yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peradangan yang berlebihan atau fibrosis. Disfungsi makrofag atau jumlah makrofag yang rendah dalam proses perbaikan jaringan menyebabkan penyembuhan luka tidak optimal (Koh, 2011).



Gambar 2.1 Gambaran histologis sel makrofag (faculty.une.edu, Tanpa tahun)

2.6 Buah Manggis

Manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Malaysia dan Indonesia. Buah manggis panen pada bulan November hingga bulan Maret, setiap panen manggis dapat menghasilkan buah hingga 20 ton atau 200.000 buah (untuk lahan 1 hektar) (Wisatya dkk., 2010). Buah manggis berbentuk bola yang berdiameter sekitar 3-8cm, kulitnya berwarna ungu kemerahan sedangkan didalamnya terdapat beberapa segmen daging buah berwarna putih (Srihari dkk., 2015).



Gambar 2.2 Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) (Wikipedia, 2011)

2.6.1 Klasifikasi Buah Manggis

Garcinia mangostana L. merupakan nama latin tanaman manggis yaitu tanaman buah yang berasal dari hutan tropis di kawasan Asia Tenggara (Malaysia atau Indonesia) (Bahri dkk., 2012). Berikut klasifikasi dari tanaman manggis:

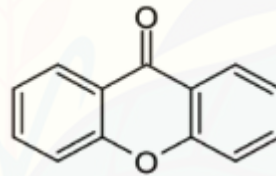
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Subdivisi	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas	: Dicotyledonae (biji berkeping dua)
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Guttiferae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> , <i>Garcinia Morella</i> , <i>Garcinia hamburgi</i> , dan sebagainya (Budiana, 2013).

2.6.2 Kandungan Kulit Manggis

Kulit buah manggis merupakan komponen terbesar dari buah manggis sebesar 60,82% dari berat utuh. Banyak kulit buah manggis yang terbuang sia-sia setiap panen dan akan menjadi sampah, sedangkan manfaat dari kulit buah manggis sangat banyak, diantaranya dapat dijadikan sebagai pewarna alami dan bahan baku obat-obatan antikanker, antioksidan, bahan pembuat kosmetik, mencegah terjadinya artritis dan Alzheimer (merupakan salah satu penyakit disfungsi otak) yang disebabkan oleh

peradangan, selain itu juga antioksidannya bahkan melebihi vitamin C dan E serta antifungi (Wisatya dkk., 2012).

Kulit manggis mengandung senyawa *xanthone*, yang merupakan bioflavonoid dengan sifat sebagai antioksidan, antibakteri, antialergi, antitumor, antihistamin, dan antiinflamasi (Srihari dkk., 2015). *Xanthone* tergolong senyawa fenolik yang memiliki struktur cincin 6 atom karbon terkonjugasi ditandai dengan ikatan karbon rangkap sehingga memberikan struktur yang stabil (Srihari dkk., 2015). *Xanthone* mempunyai aktivitas antiinflamasi dan antioksidan sehingga dapat menangkal radikal bebas dan mencegah kerusakan sel atau menghambat proses degenerasi sel (menghambat penuaan) Sekitar 40 jenis *xanthone* yang terdapat di kulit manggis, yakni antaranya *mangostin*, *mangostenol*, *mangostinon A*, *mangostenon B*, *trapezifolixanthone*, *tovophyllin B*, *alpha mangostin*, *beta mangostin*, *garcinon B*, *mangostanol*, *flavonoid epicatechin*, dan *gartanin* (Budiana, 2013). Turunan *xanthone* memiliki struktur yang hampir sama. Berikut rumus struktur *xanthone* :



Gambar 2.3 Struktur senyawa *xanthone*

Senyawa fenolik ini dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol, etanol, aseton, etil asetat, dan air. Secara umum pelarut yang sering digunakan dan efektif untuk mengekstrak senyawasenyawa fenolik dari bahan alam adalah metanol dan etanol (Srihari dkk., 2015).

Penelitian mengenai aktivitas antiinflamasi dari kulit buah manggis sampai saat ini dilakukan pada tahapan *in vitro* dan untuk tahap *in vivo* didapat α -mangostin dan γ -mangostin. Kedua senyawa tersebut secara signifikan menghambat oksida nitrat (NO) dan prostaglandin (PGE₂) produksi dari lipopolisakarida (LPS) yang merupakan mediator pada reaksi inflamasi (Aditya dkk., 2015).

2.6.2.1 Antioksidan pada Kulit Buah Manggis

Senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi makanan atau obat didefinisikan sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi sel melawan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (*Reactive Oxygen Species*), seperti singlet oksigen, superoksid, radikal peroksid dan radikal hidroksil (Richa, 2009).

Menurut (Indigomorie, 2009) antioksidan berfungsi paling efektif digunakan dalam menghambat terjadinya oksidasi dengan menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas (*primary antioxidant*). 5 tipe klasifikasi antioksidan yang berkaitan dengan fungsinya yaitu:

- a) *Primary antioxidants*, yaitu senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hydrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini, misalnya BHA (*butyl hidroksilanisol*), BHT (*butyl hydrotoluen*), dan tokoferol.
- b) *Oxygen scavengers*, yaitu berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam system sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbil palminat, asam eritrobat, dan sulfit.
- c) *Secondary antioxidant*, yaitu senyawa untuk berdekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk

menstabilkan poliefin resin. Contohnya yaitu asam tiodipropionat dan dilauril tiopropionat.

- d) *Antioxidative Enzyme*, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya *glucose oksidase*, *superoksidase dismutase (SOD)*, *glutation peroksidase*, dan katalase.
- e) *Chelators sequestrants*, yaitu senyawa yang mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalisa reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, *ethylenediaminetetra acetid acid (EDTA)*, dan fosfolipid.

2.6.2.2 Polifenol

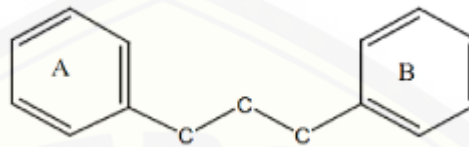
Polifenol umumnya banyak terkandung dalam kulit buah. Senyawa polifenol terdiri dari beberapa subkelas yakni, flavonol, isoflavon (dalam kedelai), flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan. Dua unsur terakhir merupakan antioksidan kuat, dengan kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E yang dikenal sebagai antioksidan potensial. Jenis polifenol lain adalah tanin yang banyak terkandung dalam teh dan coklat (Mokgope, 2006).

2.6.2.3 Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Pigmen/ zat warna yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan seperti zat warna merah, ungu, biru, kuning, dan hijau tergolong senyawa flavonoid.

Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon (C₆-C₃-C₆), terdiri dari dua cincin benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon (Gambar 2.4). flavonoid mengandung system aromatic

yang terkonjugasi. Kebanyakan senyawa terkonjugasi pada umumnya berwarna cerah sehingga menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spectrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harborne, 1996).



Gambar 2.4 Kerangka dasar senyawa flavonoid

2.6.3 Manfaat Buah Manggis

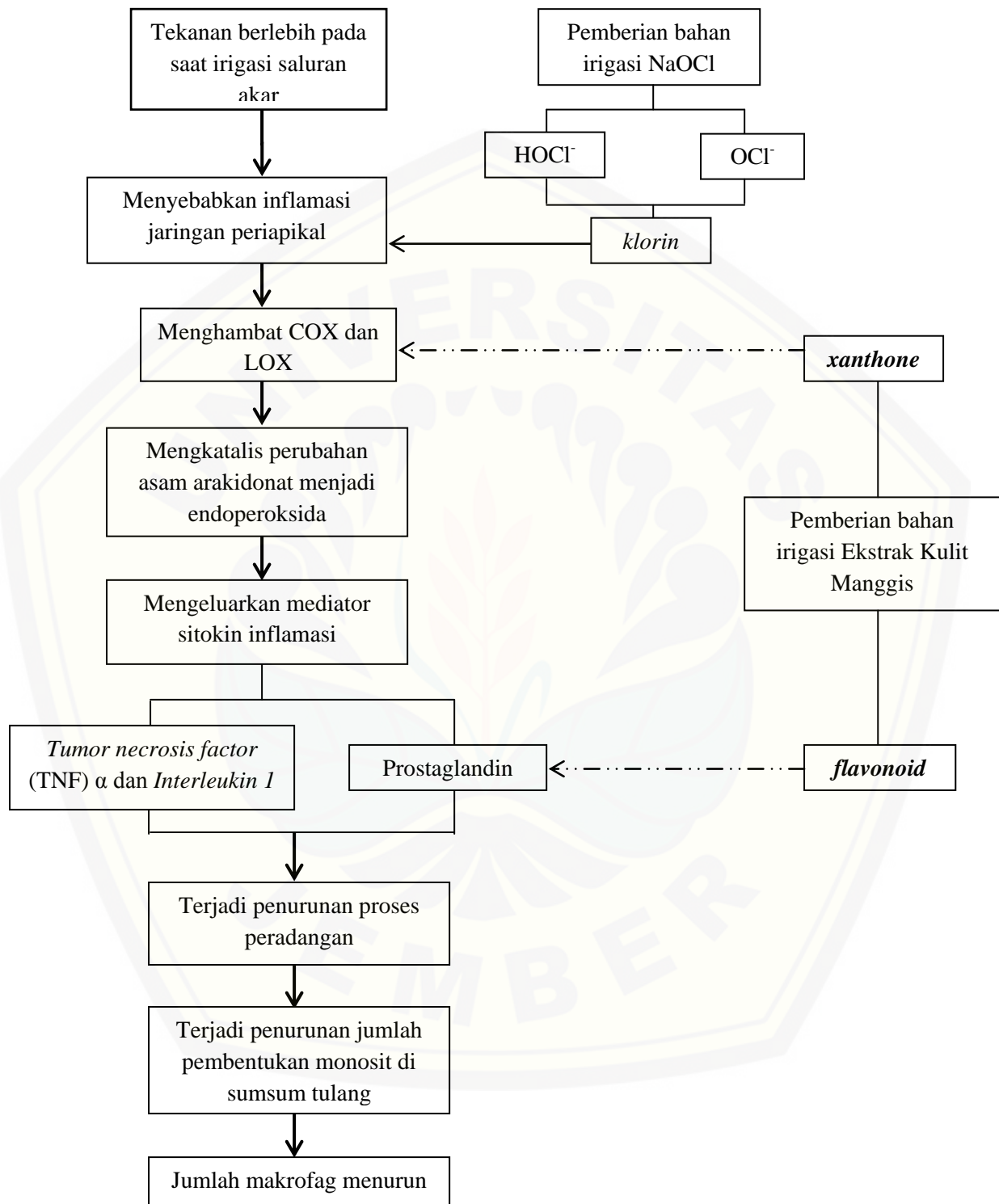
Menurut Srihari (2015) berdasarkan penelitian pendahulu yang sudah ada, manfaat buah manggis adalah:

- a) Penelitian di Singapura menunjukkan bahwa sifat antioksidan pada manggis jauh lebih efektif bila dibandingkan dengan antioksidan pada rambutan atau durian. Selain bermanfaat sebagai antioksidan, *xanthone* berkhasiat sebagai antibakteri, antifungi, antitumor, antikanker, antialergi, antihistamin, dan anti-inflamasi.
- b) Penelitian dari *infinity to Health Sciences Inc.* di Amerika Serikat, Jennifer Ferniza, penguji *xanthone* sebagai obat kumur. Hasilnya, terbukti *xanthone* dapat bersifat sebagai antibakteri.
- c) Penelitian di Jepang membuktikan *xanthone* bersifat antidiabetik. Mangiferin sebagai salah satu komponen dari *xanthone* mampu menurunkan kadar gula pada tikus percobaan dengan kasus diabetes mellitus tipe 2. Hasilnya, mangiferin dapat dijadikan sebagai antidiabetik dengan cara menurunkan resistensi insulin.
- d) Soedibyo (2008) dalam Alam Sumber Kesehatan, senyawa *xanthone*, mangostin, garsinon, flavonoid, dan tanin merupakan senyawa bioaktif fenolik. Senyawa itu berperan dalam menentukan jumlah antioksidan.

Senyawa *xanthone* memiliki fungsi antioksidan tinggi yang menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang memicu munculnya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, arthritis, dan diabetes mellitus.

- e) Peneliti di Jurusan Kimia, Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya, Dwi Oktaviani Jamil dan Taslim Ersam, (2009), mengungkap tiga senyawa *xanthone*, yaitu *1,4,5,7-tetrahidroksi-2 (1,1 dimetil alil) xanthone*, *alpha-mangostin*, dan *1,3,6-trihidroksi 7-metoksi-8 (3-metil-2 butenil)-4-(3,7-dimetil-2,6-oktadienil) xanthone* menunjukkan potensi antikanker sehingga memiliki peluang sebagai obat anti kanker.
- f) *Xanthone* memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh, terutama kesehatan kardiovaskuler, seperti mengatasi sakit jantung, aterosklerosis, hipertensi, dan thrombosis, seperti dikutip di *Journal of Free Radical Research* dan *Journal of Pharmacology*. *Xanthone* juga dapat memperlebar pembuluh darah dan memperlancar peredaran darah.
- g) Hasil penelitian menunjukkan, ekstrak kulit manggis mempunyai aktivitas melawan sel kanker meliputi payudara, liver, dan leukemia. Belakangan para ilmuwan juga sedang melakukan uji potensi kulit manggis sebagai obat HIV.

2.7 Kerangka Konsep



2.7.1 Penjelasan Kerangka Konsep

Tekanan yang berlebih pada saat irigasi saluran akar menyebabkan perforasi foramen apikal dan menyebabkan bahan penetrasi ke jaringan periapikal. Infeksi periapikal ini disebabkan karena kandungan dari bahan NaOCl, bahan irigasi umum yang biasa digunakan. NaOCl yang terurai menjadi Na^+ dan OCl^- , hipoklorit yang membentuk kesetimbangan dengan asam hipoklorit, HOCl. Asam hipoklorus (HOCl) dan ion hipoklorit (OCl^-) yang terbentuk dalam reaksi tersebut, bila berkontak dengan jaringan organik, melepaskan *klorin*, yang merupakan zat aktif dari larutan NaOCl yang apabila terpenetrasi ke jaringan periapikal menyebabkan infeksi.

Bahan irigasi alami ekstrak kulit manggis ini dapat mengurangi adanya respon inflamasi yang terjadi di jaringan periapikal. Kandungan pada ekstrak kulit manggis berupa *xanthone* dan *flavonoid* dapat menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase yang nantinya mencegah kedua enzim merubah asam arakidonat menjadi prostaglandin dan leukotriene. Dengan dicegahnya kedua enzim dapat menurunkan jumlah sel radang dan mengurangi respon inflamasi.

2.8 Hipotesis

Terdapat efek berupa berkurangnya jumlah sel makrofag pada jaringan periapikal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan bahan irigasi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) konsentrasi 80% dan 100% dan ekstrak kulit manggis 80% dan 100% lebih banyak menurunkan sel makrofag dibandingkan NaOCl 2,5%.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post-test only control group*, yaitu melakukan pengamatan dan pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

1. Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember untuk identifikasi spesies buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn).
2. Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak kulit buah manggis.
3. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba.
4. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk melakukan pembuatan dan pengamatan preparat jaringan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 hingga April 2019.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.3.1 Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Jenis kelamin jantan
- b. Berat badan 200-250 gram
- c. Usia 2-3 bulan
- d. Keadaan umum tikus baik setelah diadaptasikan selama 7 hari.

3.3.2 Besar Sampel

Daniel (2005) menyatakan cara perhitungan besar sampel yang digunakan dalam penelitian eksperimental laboratoris adalah berdasarkan rumus sebagai berikut yaitu :

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

n = sampel minimum

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

Z = konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$.

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat diterima (σ) sama besar dengan (d) maka :

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

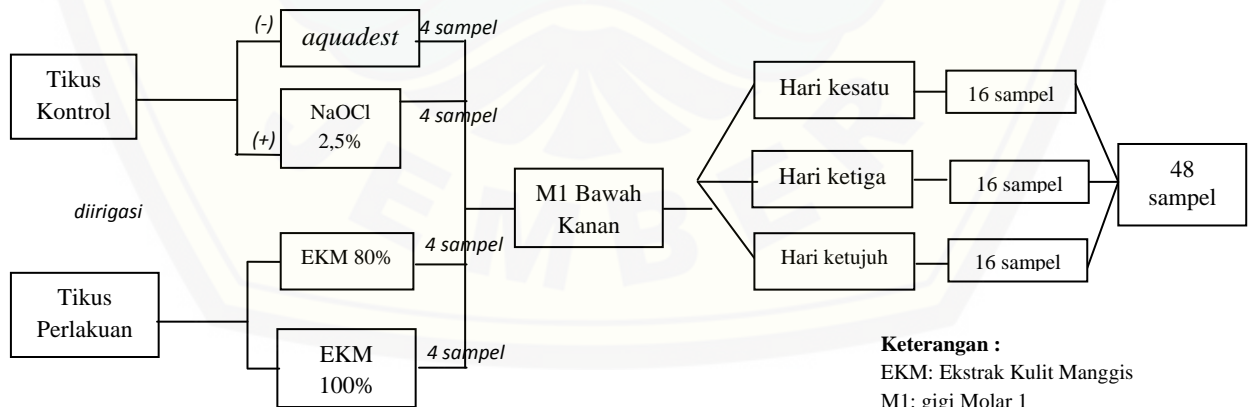
$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84$$

$$n = 4$$

Jadi, sampel minimum yang digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok.

Bagan pengelompokan sampel:



Pada penelitian ini dibagi dalam 2 kelompok besar, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jumlah sampel berjumlah 48 sampel yang setiap kelompok berdasarkan hari adalah 16 sampel. Pengamatan tiap sampel dilakukan

pada tiga waktu berbeda, yaitu pada hari kesatu, ketiga, dan ketujuh. Tikus diberi perlakuan pada gigi tikus molar 1 rahang bawah kanan.

3.3.3 Pengelompokan Sampel

Sampel sebanyak 48 ekor tikus wistar dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing-masing dibagi lagi menjadi subkelompok berdasarkan hari yang terdiri dari 16 ekor tikus yang diberi perlakuan pada gigi molar satu rahang bawah kanan. Pembagian kelompok sebagai berikut:

- a. Kelompok I (hari kesatu) yang terdiri dari 16 sampel dibagi lagi menjadi:
 - I.1 Kontrol negatif: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi *aquadest*.
 - I.2 Kontrol positif: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi NaOCl 2,5%.
 - I.3 Perlakuan 1: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi ekstrak kulit manggis 80%.
 - I.4 Perlakuan 2: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi ekstrak kulit manggis 100%.
- b. Kelompok II (hari ketiga) yang terdiri dari 16 sampel dibagi lagi menjadi:
 - II.1 Kontrol negatif: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi *aquadest*.
 - II.2 Kontrol positif: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi NaOCl 2,5%.
 - II.3 Perlakuan 1 : 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi ekstrak kulit manggis 80%.
 - II.4 Perlakuan 2: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi ekstrak kulit manggis 100%.
- c. Kelompok III (hari ketujuh) yang terdiri dari 16 sampel dibagi lagi menjadi:
 - III.1 Kontrol negatif: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi *aquadest*.
 - III.2 Kontrol positif: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi NaOCl 2,5%.

III.3 Perlakuan 1 : 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi ekstrak kulit manggis 80%.

III.4 Perlakuan 2: 4 ekor tikus dipapar bahan irigasi ekstrak kulit manggis 100%.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Konsentrasi Ekstrak Kulit Manggis 80% dan 100%

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah jumlah sel makrofag pada jaringan periapikal tikus wistar jantan yang terpapar bahan irigasi.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel Terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Hewan coba (tikus wistar) berdasarkan:
 1. Jenis kelamin, usia, dan berat badan
 2. Makanan dan minuman
- b. Lingkungan Hidup Tikus Wistar Jantan
- c. Tempat asal buah manggis
- d. *aquadest steril*
- e. Konsentrasi NaOCl 2,5%
- f. Cara pengambilan preparat jaringan
- g. Cara perhitungan jumlah sel makrofag

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Kulit Manggis

Pemberian ekstrak kulit manggis yang dibuat dari kulit lunak buah manggis dengan metode maserasi. Konsentrasi yang digunakan untuk pemaparan pada tikus wistar jantan menggunakan 80% dan 100% waktu perlakuan sesuai dengan waktu pengamatan pada hari kesatu, ketiga, dan ketujuh.

3.5.2 Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi awal bila tubuh terkena jejas. Salah satu tanda sel radang adalah sel makrofag. Sel makrofag adalah sel radang berukuran relatif besar yaitu 30 mikrometer yang bergerak secara amuboidal yang akan dihitung jumlahnya menggunakan mikroskop binokuler sebagai indikator terhadap berkurangnya jumlah sel dari proses inflamasi.

3.5.3 Tikus Wistar Jantan

Tikus wistar jantan merupakan mamalia yang biasa digunakan dalam penelitian konvensional dan dapat mewakili manusia karena mempunyai kebutuhan nutrisi dan alat pencernaan serupa manusia. Gigi yang digunakan dari tikus wistar jantan adalah gigi Molar 1 pada regio rahang bawah kanan.

3.5.4 Daerah pengambilan

Proses pengambilan jaringan dilakukan di gigi molar satu rahang bawah kanan tikus wistar. Setelah dilakukan pengambilan, dilakukan proses pembuatan preparat jaringan dengan arah potongan mesial-distal, dan pengamatan dilakukan di jaringan periapikal bawah foramen apikal sesuai hari perlakuan.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

a. Ekstraksi Kulit Manggis

1. Tampak
2. Ayakan 80 mesh
3. Pisau *stainless steel*
4. Blender
5. Timbangan digital
6. *Beaker glass*
7. Spatula kaca
8. Gelas ukur
9. Corong kaca
10. Kertas saring
11. Oven

12. *Rotary evaporator*
 13. Wadah tertutup (toples)
 14. Labu evaporasi
- b. Uji sampel hewan coba
1. Timbangan hewan coba
 2. Kandang tikus
 3. Tempat makan dan minum tikus
 4. *Disposable syring* insulin (30G)
 5. Kaca mulut no.3 dan no.4
 6. Sonde lurus
 7. Mata bur bulat (Edenta) no.801
 8. Mikropipet dengan tipnya
 9. *Spreader*
 10. *Hand piece Low Speed*
 11. Jarum ekstirpasi warna ungu
 12. Jarum *file* no.006 (*Dentsply*)
 13. Jarum *file* no.008 (*Dentsply*)
 14. Jarum *file* no.010 (*Dentsply*)
 15. Jarum *file* no.015 (*Dentsply*)
 16. Pinset
 17. Blade dan scalpel
 18. *Object glass* dan *deck glass*
 19. Mikroskop
 20. *Autoclave*
 21. Gunting
 22. Sarung tangan
 23. Masker
 24. Gelas ukur
 25. Alat cetak paraffin
 26. Alas kaca
 27. *Waterbath*

28. Tabung reaksi (Pyrex)
29. Neraca (Ohaus, Jerman)
30. Gelas ukur

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Buah Manggis
- b. Etanol 96%
- c. Larutan NaOCl 2,5%
- d. *Aquadest steril*
- e. Tikus wistar jantan
- f. *Cavition*
- g. Makanan untuk tikus wistar jantan jenis pellet (Turbo)
- h. Paraffin
- i. *Cat hematoxilin-Eosin*
- j. *Xylol*
- k. Alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
- l. *Buffer Formaldehid 10%*
- m. Air mengalir
- n. *Cotton pellet*
- o. *Paper point*
- p. *Eter chloride*
- q. Minyak emersi
- r. Asam formiat 10%

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Uji Identifikasi Buah Manggis

Identifikasi spesies buah manggis dilakukan di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Spesies buah manggis yang diperoleh adalah dari spesies *Garcinia Mangostana L.*

b. Perijinan *Ethical Clearence*

Sebelum melakukan penelitian, prosedur perlakuan terhadap hewan coba telah memenuhi syarat keterangan kelayakan Etika Perijinan kepada Komite Etik dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

c. Sterilisasi Alat

Alat – alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih, dikeringkan kemudian direndam alkohol 70% selama 15 menit dan untuk alat – alat yang terbuat dari logam yang akan digunakan dicuci bersih dan disterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit dengan 121°C pada tekanan 5 psi.

d. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Manggis

1. Buah manggis sebanyak 5 kg dicuci dengan air mengalir, pengupasan pemisahan dari kulit keras, lalu kulit buah bagian lunak diambil.
2. Kulit lunak dipotong kecil-kecil, ditimbang berat basahnya, dijemur dibawah sinar matahari untuk menghilangkan sisa air. (Gambar 3.1)



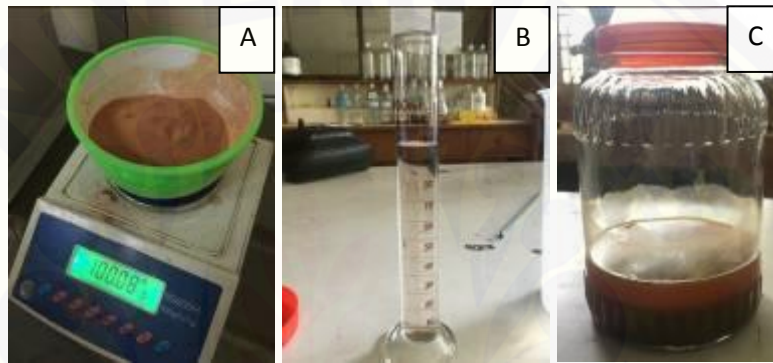
Gambar 3.1 Potongan kulit lunak manggis (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

3. Selanjutnya kulit lunak tersebut dimasukkan ke dalam lemari pengering temperature 50°C hingga kulit buah menjadi kering betul selama 2-3 jam.
4. Kulit manggis yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan *blender*. (Gambar 3.2)



Gambar 3.2 Serbuk kulit manggis yang sudah halus (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

5. Serbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan menjadi serbuk simplisia halus.
6. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam toples lalu direndam dengan etanol 96% sesuai perbandingan 1:7,5 (b/v) antara banyaknya serbuk simplisia dengan pelarut. Perendaman dilakukan selama 3 hari didalam wadah tertutup pada suhu ruangan dengan dilakukan pengadukan larutan 2-3 kali sehari agar kulit manggis tidak mengendap dan tercampur merata. (Gambar 3.3)



Gambar 3.3 Takaran 100 gram serbuk kulit manggis (A), takaran 750 ml etanol 96% (B), dan perendaman serbuk dan etanol dalam wadah tertutup (C) (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

7. Setelah itu massa dipindahkan ke dalam corong kaca dan disaring menggunakan kertas penyaring. Serbuk hasil penyaringan dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* dengan suhu 40°C selama 3 jam. Kemudian dikeringkan selama lebih kurang 24 jam dan akhirnya diperoleh ekstrak kental kulit manggis yang telah siap digunakan. Hasil ekstrak kulit buah manggis disimpan dalam lemari es apabila tidak langsung digunakan. (Gambar 3.4)



Gambar 3.4 Penyaringan serbuk dengan kertas saring dan mesin penyaring (A) dan (B), dan hasil penyaringan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (C) (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak kulit manggis 80% dan 100%, maka digunakan rumus pengenceran:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan :

M_1 : Konsentrasi awal larutan (gr/ml)

V_1 : Volume awal larutan (ml)

M_2 : Konsentrasi kedua larutan (gr/ml)

V_2 : Volume kedua larutan (ml)

Untuk konsentrasi 80%, sebagai berikut :

ekstrak kulit buah manggis konsentrasi 80% diperoleh dari 0,8 ml larutan ekstrak kulit buah manggis 100% ditambah dengan 0,2 ml *aquadest* lalu dihomogenkan dengan *vortex*.

e. Dosis Ketamin

Dosis ketamin yang digunakan untuk menganestesi tikus secara intramuscular adalah 20-40 mg/kgBB (Kusumawati, 2004). Apabila dosis tersebut dikonversikan pada tikus, maka dosis ketamin yang digunakan adalah 0,04-0,08 ml/200-250g BB tikus.

f. Adaptasi Hewan Coba

- a) Sampel tikus wistar jantan diadaptasikan terhadap lingkungan kandang dan diberi makanan standar Turbo serta air minum setiap hari secara *ad libitum* selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- b) Tikus wistar dengan berat 200 – 250 mg sebanyak 48 ekor dan dibagi dalam dua kelompok kontrol dan perlakuan. Kontrol negatif (-) adalah *aquadest steril*, kontrol positif (+) adalah NaOCl 2,5%, dan kelompok perlakuan yaitu ekstrak kulit manggis 80% dan 100%, dan diamati berdasarkan pengamatan hari kesatu, ketiga, dan ketujuh dengan masing-masing 16 ekor tikus.

g. Penentuan Panjang Rata-Rata Gigi Hewan Coba

Dilakukan perhitungan panjang rata-rata gigi tikus dengan cara sebagai berikut :

- 1) Empat ekor tikus wistar yang tidak digunakan didekaputasi
- 2) Gigi molar satu (M1) rahang bawah kanan setiap ekor tikus diekstraksi dengan alat ekskavator dan sonde setengah lingkaran
- 3) Keempat gigi M1 yang telah diekstraksi, dilakukan pengukuran panjang gigi sebenarnya
- 4) Untuk mencari panjang rata-rata gigi tikus dengan rumus:

$$P_{\text{rata2}} = \frac{T_1 + T_2 + T_3 + T_4}{4 \text{ (jumlah sampel)}}$$

$$P_{\text{rata2}} = \frac{3 + 3 + 3 + 3}{4}$$

$$= 3\text{mm}$$

Setelah ditemukan panjang rata-rata gigi tikus, tikus yang akan diberi perlakuan nantinya menggunakan pacuan panjang rata-rata dan akan dilebihkan $\pm 2\text{mm}$ agar mencapai ke jaringan periapikal jika bahan irigasi tersebut dipaparkan.

3.7.2 Tahap Perlakuan Hewan Coba

- a. Menyiapkan tikus difiksasi dengan posisi tengkurap pada meja.
- b. Menganestesi tikus pada kaki secara intra muscular dengan obat anastesi berupa *Ketamin HCL* sebanyak 0,04 – 0,08 ml/ 200-250 g BB tikus untuk setiap satu ekor tikus. (Gambar 3.5)



Gambar 3.5 Perlakuan anestesi secara *im* pada kaki tikus (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- c. Tikus yang sudah dianestesi diposisikan pada *dental rat chair*. (Gambar 3.6)



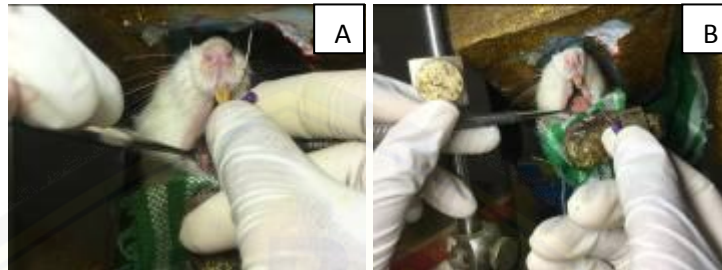
Gambar 3.6 Memposisikan tikus di *dental rat chair* (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- d. Meretraksi pipi tikus dengan menggunakan burnisher, kemudian daerah kerja diasepsis dengan menggunakan *cotton pellet* yang ditetesi dengan alkohol 70%.
- e. Membuat *access opening* pada oklusal gigi molar 1 regio kanan rahang bawah tikus menggunakan *round bur* no.801 (*Edenta*) hingga perforasi pulpa (kedalaman dilebihkan ± 2 mm). (Gambar 3.7)



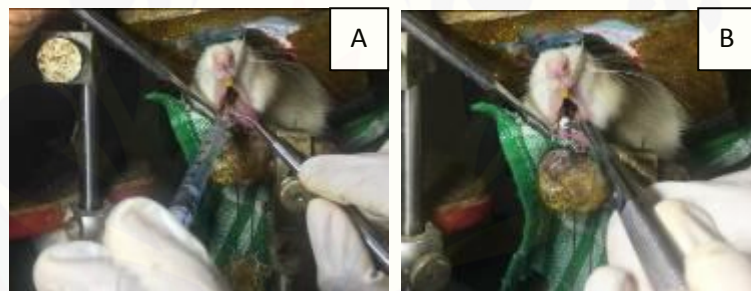
Gambar 3.7 Pengeburan gigi tikus (A), *cavity entrance* (B) (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- f. Selanjutnya dilakukan ekstirpasi pulpa menggunakan jarum Ekstirpasi warna ungu (jarum ekstirpasi terkecil) dengan kedalaman dilebihkan $\pm 2\text{mm}$. (Gambar 3.8)



Gambar 3.8 Gigi tikus yang diekstirpasi menggunakan jarum ekstirpasi ungu (Sumber: Koleksi pribadi, 2019)

- g. Diirigasi menggunakan *aquadest steril* 0,25 ml dan dikeringkan menggunakan *cotton pellet* dan *paper point*. (Gambar 3.9)

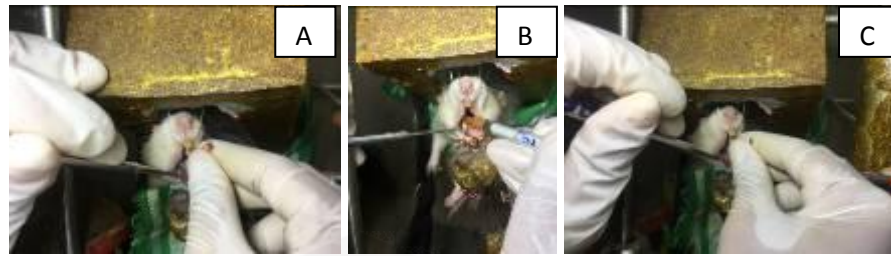


Gambar 3.9 Irigasi menggunakan *aquadest* (A) dan mengeringkan menggunakan *cotton pellet* (B) (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- h. Selanjutnya, tikus siap diberi perlakuan dengan paparan bahan irigasi selama preparasi saluran akar.

Perlakuan Ekstrak Kulit Manggis 100%

- Preparasi saluran akar gigi tikus sesuai panjang kerja 3mm (kedalaman dilebihkan $\pm 2\text{mm}$) menggunakan File (*dentsply*) no.06, diirigasi dengan ekstrak kulit manggis 100% menggunakan *disposable syringe* selama 10 detik, selanjutnya diirigasi dengan *aquadest steril* sebanyak 0,25 ml. Preparasi dilanjutkan menggunakan File no. 08, no.10 dan no. 15 dengan cara kerja yang sama seperti diatas. (Gambar 3.10)



Gambar 3.10 Preparasi menggunakan File no.06 (A), irigasi menggunakan ekstrak kulit manggis 100% (B) dan preparasi menggunakan File no.15 (C) (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- Setelah selesai preparasi dengan menggunakan File no.15 kavitas dikeringkan menggunakan *cotton pellet* dan *paper point* yang dipotong pendek sesuai panjang saluran akar, kemudian ditumpat sementara menggunakan *caviton*.

Perlakuan Ekstrak Kulit Manggis 80%

- Cara kerja sama seperti diatas dengan menggunakan bahan irigasi ekstrak kulit manggis konsentrasi 80%.

Perlakuan NaOCl 2,5%

- Cara kerja sama seperti diatas dengan menggunakan bahan irigasi NaOCl 2,5%.

Perlakuan *sterile aquadest*

- Cara kerja sama seperti diatas dengan menggunakan bahan irigasi *sterile aquadest*.
- i. Tikus ditunggu hingga sadar kemudian dilepas bergantung dari kelompok waktu yang terdiri dari hari kesatu, ketiga, dan ketujuh. Tikus diberi makan pellet (Turbo) dan minum sehari 2 kali menggunakan dot yang dipasang pada kandang.
 - j. Setelah hari kesatu, ketiga, dan ketujuh, tikus di anastesi lagi. Siap untuk dilakukan dekaputasi. (Gambar 3.11)



Gambar 3.11 Proses anestesi tikus sebelum dekaputasi (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- k. Setelah didekaputasi, dilakukan pengambilan jaringan. Pengambilan pada gigi molar satu sampai gigi molar tiga. (Gambar 3.12)

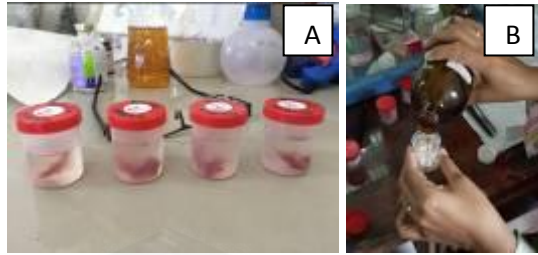


Gambar 3.12 Pemotongan jaringan gigi M1-M3 kanan rahang bawah (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

3.7.3 Tahap Pembuatan Preparat Jaringan dan Pewarnaan Jaringan

3.7.3.1 Persiapan Sediaan Jaringan Histologi (Kurnia dkk., 2015)

- a. Pengambilan jaringan dengan memotong rahang bawah kanan tikus dari mesial gigi molar 1 sampai distal gigi molar 3 yang telah diberi perlakuan.
- b. Jaringan lunak dipisahkan dari jaringan keras dipisahkan menggunakan gunting bedah dan pisau bedah.
- c. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan *buffer formalin* 10% selama minimal 12-18 jam. Selanjutnya jaringan didekalsifikasi menggunakan larutan asam formiat 10% selama 7 hari. (Gambar 3.13)



Gambar 3.13 Fiksasi menggunakan larutan *buffer formalin* 10% (A), dekalsifikasi dengan asam formiat 10% (B) (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

- d. Setelah 7 hari, memeriksa jaringan pada bagian permukaan mahkota gigi menggunakan jarum untuk memastikan jaringan keras sudah melunak.

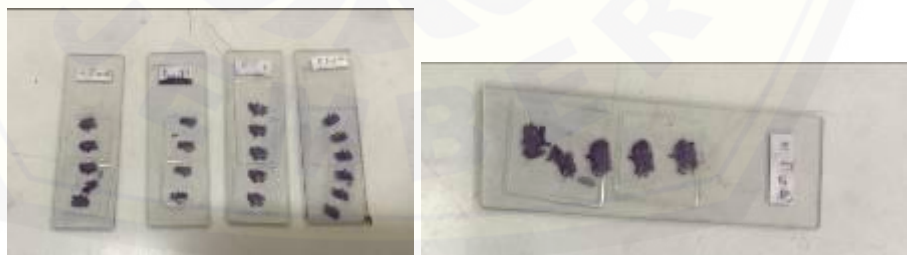
3.7.3.2 Tahap Pemrosesan Sediaan Preparat Histologi Jaringan

- a. Melakukan dehidrasi dimulai dengan mencelupkan jaringan ke dalam alkohol 70% selama 15 menit, 80% selama 1 jam, 95% selama 2 jam, dan 100% selama 3 jam.
- b. Melakukan *clearing* menggunakan bahan *xylol* sebanyak 3 kali pada 3 tabung yang berbeda dengan ketentuan waktu 1 jam pada tabung pertama dan 2 jam pada masing-masing tabung kedua dan ketiga.
- c. Melakukan impregnasi dengan cara jaringan dibungkus dengan kertas saring agar *xylol* terserap ke dalam kertas saring. Jaringan dimasukkan ke dalam paraffin dengan suhu 56-60°C selama 2x3 jam agar terjadi proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan.
- d. Selanjutnya adalah *embedding*, dilakukan penanaman jaringan ke dalam suatu balok yang berisi bahan *embedding* yaitu paraffin dan paraffin ditunggu sampai membeku.
- e. Setelah paraffin membeku, dilakukan penyayatan balok paraffin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 μm . Arah pemotongan yaitu dari mesial gigi molar 1 sampai distal molar 3 pada rahang bawah yang diberi perlakuan. Sayatan dilakukan pada daerah yang mendekati dengan jaringan periapikal. Sayatan ditampung ke dalam *waterbath* dengan temperatur 56-58°C. Kemudian sayatan ditunggu sampai mekar.

- f. Sayatan yang sudah mekar diambil menggunakan kuas dan diletakkan pada *object glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan dengan suhu 30-35°C minimal selama 12 jam.

3.7.3.3 Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin

- a. Pengecatan preparat jaringan dilakukan dengan tahapan deparafinisasi dengan memasukkan ke dalam *xylol* selama 2-3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam wadah yang berbeda selama 2-3 menit.
- b. Rehidrasi dengan menggunakan alkohol 100% dan 95% selama 3 menit.
- c. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit. Pewarnaan preparat dengan cara direndam dalam *Hematoxillin Mayer's* selama 15 menit.
- d. Bilas ulang dengan air mengalir selama 20 menit.
- e. Preparat direndam *eosin* selama 15 detik sama 2 menit.
- f. Dehidrasi dengan alkohol konsentrasi 95% dan 100% masing-masing selama 2-3 menit sebanyak 2 kali dalam wadah yang berbeda.
- g. Masukkan preparat ke dalam *xylol* tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda.
- h. Selanjutnya, *mounting* dengan cara meneteskan cairan *Entellan* ke preparat lalu ditutup dengan *deck glass*. (Gambar 3.14)



Gambar 3.14 Preparat jaringan (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

3.7.3.4 Tahap Perhitungan Jumlah Makrofag

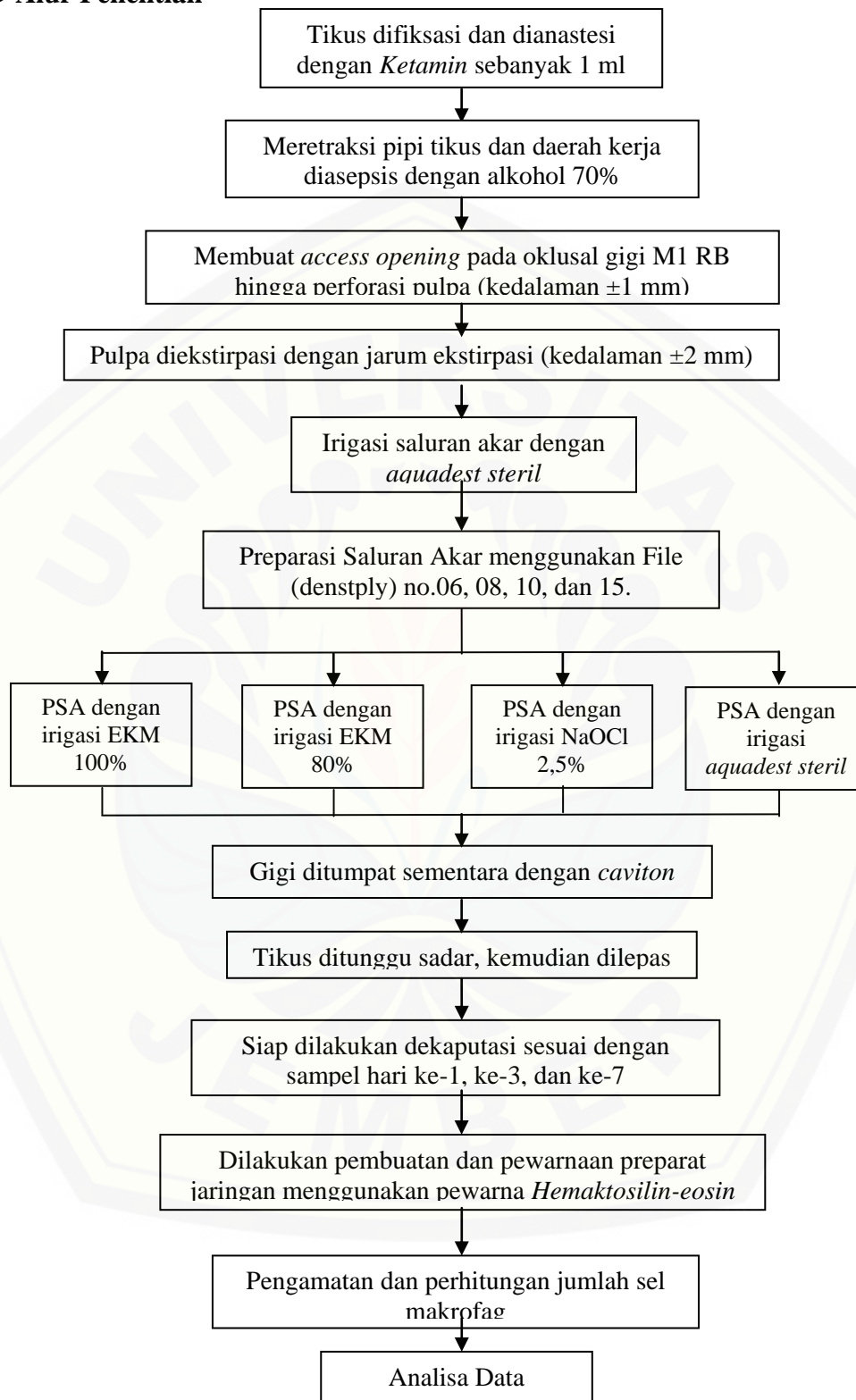
1. Daerah perhitungan penelitian dilakukan pada jaringan periapikal.

2. Menggunakan lensa obyektif pada mikroskop binokuler yang telah ditetaskan minyak emersi di atas preparat pembesaran 400x.
3. Perhitungan dimulai dari daerah jaringan periapikal kiri atas sampai bawah preparat kemudian digeser kekanan, ke atas sampai ke bagian bawah kanan sampai ke atas, agar semua lapang pandang terlihat. Perhitungan didapat dengan menjumlahkan ketiga bagian kemudian diambil rata-ratanya.
4. Mencatat hasil pengamatan dari jumlah makrofag. Makrofag merupakan sel fagosit yang berukuran relatif besar yaitu 30 mikrometer. Dengan mikroskop binokuler terlihat bahwa sitoplasma dari sel seperti sebuah kantung yang penuh dengan granula dikarenakan terdapat begitu banyak lisosom dan mitokondria.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *software* pengolahan data statistik yaitu SPSS. Uji normalitasnya menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitasnya dengan uji *Levene*. Data yang diperoleh normal dan homogen, maka analisa data menggunakan uji parametrik yaitu *Two Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) kemudian diuji dengan uji *Least Significance Different* (LSD) untuk mengetahui adanya perbedaan tiap-tiap kelompok.

3.9 Alur Penelitian



Keterangan :

EKM: Ekstrak Kulit Manggis

PSA: Preparasi Saluran Akar

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- a. Irigasi EKM dan NaOCL pada saluran akar gigi tikus wistar dapat memicu kemunculan sel makrofag pada jaringan periapikalnya.
- b. Jumlah sel makrofag pada jaringan periapikal tikus wistar paling sedikit setelah diirigasi Ekstrak kulit Manggis 80 % dibanding kelompok EKM 100% dan NaOCL, tetapi tidak berbeda bermakna.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat diberikan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang bahan irigasi alami ekstrak kulit buah manggis dengan kandungan *xanthone* murni.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang menjadikan ekstrak kulit manggis sebagai obat antiinflamasi dengan sediaan lain.
3. Perlu uji *in-vivo* pada spesies lain hewan coba selain tikus wistar untuk melihat adanya efek inflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadhia, F.F. 2017. Uji Antibakteri Secara Klinis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Dalam Saluran Akar Gigi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Jember: FKG Universitas Jember.
- Aditya, M.R, Marissa, D, Suhartono, E. 2015. Potensi Antiinflamasi Jus Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap denaturasi protein *in vitro*. *Berkala Kedokteran*, Vol.11. No.2: 149-159.
- Arifah, S. 2009. Sodium Hypochlorite Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar. *USU Repository*
- Bachtiar, Z.A. 2016. Perawatan saluran akar pada gigi permanen anak dengan bahan gutta percha. *Jurnal PDGI*, Vol. 65. No. 2: 60-67.
- Bahri, S., Pasaribu, F. Sitorus, P. 2012. Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 1(1): 1-8.
- Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I. 2013. *Imunologi Dasar Edisi Kesepuluh*. Jakarta: Badan Penerbit FK Universitas Indonesia.
- Budi, H.S., P. Soesilowat, Z. Imanina. 2017. Gambaran histopatologi penyembuhan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi*. Indonesia. 3(3): 122
- Budiana, N.S. 2013. Buah Ajaib Tumpas Penyakit. Jakarta: Penebar Swadaya. pp. 116-120.

- Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi diFiore dengan Kolerasi Fungsional*. Edisi 11. Jakarta: EGC
- Gokaraju, G.R., Gokaraju, R., Golakoti, T., Chirravuri, V., Bhupathiraju, K. 2009. *A New Nutraceutical Composition From Garcinia mangostana*. <http://www.sumobrain.com/patents/wipo/New-nutraceutical-composition-from-garcinia/WO2009093255.html>
- Grossman, I.L., Chandra, S., Gopikrishna. 2014. *Endodontic Practice 13th Edition*: editors.
- Guyton, C.A and Hall, J.E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Haniastuti, T. 2009. Penurunan Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag Mencit setelah distimulasi minyak atsiri kencur terhadap *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Dentika Dental Journal*, Vol. 14. No. 1: 11-14.
- Khasanah, C.U. 2015. Efektivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) 100% dalam Membersihkan *Smear Layer* pada Dinding Saluran Akar. *Skripsi*. Jember: FKG Universitas Jember.
- Koh T.J., DiPietro L.A. 2011. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Rev Mol Med*. 11(13): 23.
- Miloro, M. 2004. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery 2nd Ed*. BC Decker Inc. London.
- Moenadjat, Y. 2009. Luka bakar: Masalah dan Tata Laksana. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Mulyawati, E. 2011. Peran Bahan Disinfeksi Pada Perawatan Saluran Akar. *Maj Ked Gi*. 18(2): 205-209.

- Noviyanti, Hadriyanto, W., dan Nugraheni, T. 2013. Pengaruh Penggunaan Larutan Sodium Klorida 0,9%, Alkohol 96%, dan Air Destilasi sebagai Bahan *Intermediate Flushes* Saluran Akar terhadap Kebocoran Apikal Obturasi Saluran Akar. *Jurnal Kedokteran Gigi*, Vol. 4. No. 2: 94-101.
- Nucera S, Biziato D. Palma MD. 2010. The interplay between macrophages and angiogenesis in development tissue injury and regeneration. *Int. j. dev. Biol.* 55:495-503
- Nugraheni, T. 2012. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Aplikasi Sodium Hipoklorit (NaOCl) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Kekuatan Geser Perlekatan Siler Berbahan Dasar Resin Pada Dentin Saluran Akar. *Jurnal Kedokteran Gigi*, Vol.19. No.1; 21-24.
- Paramawati, R. 2010. Dahsyatnya Manggis untuk Menumpas Penyakit. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Pramitaningastuti, S.A, Anggraeny, E. N. 2017. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosal L.*) terhadap Edema Kaki Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol.13. No.1.
- Putra, P.P.A.M. 2013. Respon Antiinflamasi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Tikus Wistar Jantan (Penelitian Eksperimental Laboratoris). *Skripsi*. Jember: FKG Universitas Jember.
- Prasetya, R.C. 2013. Jumlah sel makrofag gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi periodontitis setelah pemberian ekstrak etanolik kulit manggis. *Jurnal Dentofasial*, Vol. 12. No. 2: 135-138.

- Ramadhiani, C.N., Santosa, R.T., dan Mulyawati, E. 2016. Pengaruh Kombinasi Larutan Irigasi terhadap Kebocoran Apikal pada Obturasi Saluran Akar menggunakan Siler Resin Epoksi dan *Mineral Trioxide Aggregate*. *Jurnal Kedokteran Gigi*, Vol. 7. No. 2: 19-25.
- Safira, H. 2016. Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar terhadap Kultur Sel *Lines* Fibroblas BHK-21. Jember: FKG Universitas Jember.
- Supriyatna, Febriyanti R.M., Dewanto, Wijaya I., dan Ferdiansyah F. *Fitoterapi Sistem Organ: Pandangan Dunia Barat terhadap Obat Herbal Global*.
- Tanumihardja, M. 2010. Larutan Irigasi Saluran Akar. *Jurnal Dentofasial*, Vol. 9. No. 2: 108-115.
- Wisatya, D.K., Sarjono, P.R., dan Mulyani, N.S. 2010. Pengaruh Pemanasan Pada Proses Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn*) terhadap Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, Vol. 13. No. 2: 46-50.
- Yunita, S. 2015. Efektivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) 100% dalam membersihkan *Smear Layer* pada Dentin Mahkota. Jember: FKG Universitas Jember.
- Yusof, S.A.B. 2009. *Sodium Hypochlorite* Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar. *Skripsi*. Medan: FKG Universitas Sumatera Utara.

Lampiran A. Alat dan Bahan Penelitian

A.1 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis



Buah Manggis



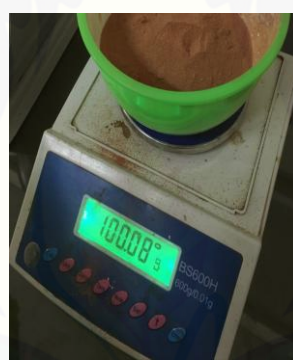
Tampah



Ayakan 80 mesh



Pisau Stainless Steel



Timbangan Digital



Beaker glass



Gelas Ukur



Corong Kaca



Kertas Saring



Rotary evaporator



Wadah tertutup (Toples)



Labu evaporasi



Blender



Cawan petri



Spatula kaca

A.2 Alat dan Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba



Tikus Wistar Jantan



Disposable Sruit 1 cc



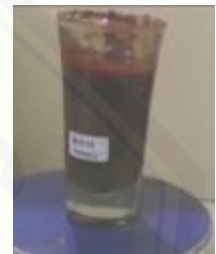
Xylazine



Ketamin



Disposable syringe (30G)



Ekstrak Kulit Manggis



Matabur Edenta



Dental rat chair



Micromotor dan handpiece

A.3 Alat dan Bahan Proses dan Pembuatan Preparat Jaringan



Tempat Jaringan



Mikrotom



Waterbath 37⁰C



Auto Processing



Slide warmer



Inkubator



Freezer



Blok Jaringan

A.4 Alat dan Bahan Pewarnaan dan Pengamatan Preparat Jaringan



Mikroskop Cahaya



Preparat Jaringan



- | | |
|--------------------|-------------------------|
| 1. Xylol | 7. Enelan |
| 2. Etanol | 8. Eosin |
| 3. Alkohol 100% | 9. Mayer's hematoksilin |
| 4. Aquadest steril | 10. Object glass |
| 5. Alkohol 70% | 11. Deck glass |
| 6. Asam formic 10% | |

Lampiran B. Rata-rata Hasil Jumlah Sel Makrofag

- Pengamatan hari ke-1

Kelompok	Tikus	Pengamat1	Pengamat2	Pengamat3	Rata-rata
<i>Aquadest</i> K(-)	1	1	3	1	1,6
	2	2	1	1	1,3
	3	2	3	2	2,3
	4	2	2	1	1,6
NaOCl 2,5% K(+)	1	1	2	1	1,3
	2	1	2	1	1,3
	3	2	2	1	1,6
	4	1	2	1	1,3
EKM 80%	1	1	1	1	1
	2	2	2	1	1,6
	3	2	2	1	1,6
	4	1	1	1	1
EKM 100%	1	2	1	2	1,6
	2	1	2	2	1,6
	3	1	1	1	1
	4	2	2	1	1,6

- Pengamatan hari ke-3

Kelompok	Tikus	Pengamat1	Pengamat2	Pengamat3	Rata-rata
<i>Aquadest</i> K(-)	1	3	2	1	2
	2	1	2	2	1,6
	3	3	2	1	2
	4	1	2	3	2
NaOCl 2,5% K(+)	1	3	2	2	2,3
	2	2	1	2	1,6
	3	1	2	1	1,3
	4	2	1	3	2
EKM 80%	1	1	1	1	1
	2	1	2	2	1,6
	3	2	2	1	1,6
	4	3	1	2	2
EKM 100%	1	3	2	2	2,3
	2	3	2	1	2
	3	1	1	3	1,6
	4	2	1	1	1,3

• Pengamatan hari ke-7

Kelompok	Tikus	Pengamat1	Pengamat2	Pengamat3	Rata-rata
<i>Aquadest</i> K(-)	1	2	2	1	1,6
	2	2	1	2	1,6
	3	1	1	2	1,3
	4	1	2	2	1,6
NaOCl 2,5% K(+)	1	1	1	2	1,3
	2	2	1	1	1,3
	3	1	2	1	1,3
	4	2	2	2	2
EKM 80%	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1
	3	1	2	1	1,3
	4	1	1	2	1,3
EKM 100%	1	1	2	2	1,6
	2	1	2	2	1,6
	3	1	1	1	1
	4	1	1	1	1

Lampiran C. Analisis Data

C.1 Uji Normalitas *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VAR00001
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	1.5000
	Std. Deviation	.24863
Most Extreme Differences	Absolute	.167
	Positive	.167
	Negative	-.136
Kolmogorov-Smirnov Z		.577
Asymp. Sig. (2-tailed)		.893

a. Test distribution is Normal.

C.2 Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

VAR00001

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.922	2	45	.405

C.3 Uji Parametri *Two-Way Anova*

ANOVA

VAR00001

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.400	2	.700	6.438	.003
Within Groups	4.894	45	.109		
Total	6.295	47			

C.4 Uji LSD (Least Significant Difference)

jumlah sel
LSD

(i) kelompok	(j) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
naocl hari 1	aquadest hari 1	.32500	.23311	.172	-.1478	.7978
	ekm 80 hari 1	.40000	.23311	.095	-.0728	.8728
	ekm 100 hari 1	.25000	.23311	.291	-.2228	.7228
	naocl hari 3	-.20000	.23311	.397	-.6728	.2728
	aquadest hari 3	-.10000	.23311	.670	-.5728	.3728
	ekm 80 hari 3	.15000	.23311	.524	-.3228	.6228
	ekm 100 hari 3	-.10000	.23311	.670	-.5728	.3728
	naocl hari 7	.17500	.23311	.458	-.2978	.6478
	aquadest hari 7	.22500	.23311	.341	-.2478	.6978
	ekm 80 hari 7	.55000	.23311	.024	.0772	1.0228
ekm 100 hari 7	.40000	.23311	.095	-.0728	.8728	
aquadest hari 1	naocl hari 1	-.32500	.23311	.172	-.7978	.1478
	ekm 80 hari 1	.07500	.23311	.750	-.3978	.5478
	ekm 100 hari 1	-.07500	.23311	.750	-.5478	.3978
	naocl hari 3	-.52500	.23311	.031	-.9978	-.0522
	aquadest hari 3	-.42500	.23311	.077	-.8978	.0478
	ekm 80 hari 3	-.17500	.23311	.458	-.6478	.2978
	ekm 100 hari 3	-.42500	.23311	.077	-.8978	.0478
	naocl hari 7	-.15000	.23311	.524	-.6228	.3228
	aquadest hari 7	-.10000	.23311	.670	-.5728	.3728
	ekm 80 hari 7	.22500	.23311	.341	-.2478	.6978
ekm 100 hari 7	.07500	.23311	.750	-.3978	.5478	
ekm 80 hari 1	naocl hari 1	-.40000	.23311	.095	-.8728	.0728
	aquadest hari 1	-.07500	.23311	.750	-.5478	.3978
	ekm 100 hari 1	-.15000	.23311	.524	-.6228	.3228
	naocl hari 3	-.60000	.23311	.014	-1.0728	-.1272
	aquadest hari 3	-.50000	.23311	.039	-.9728	-.0272
	ekm 80 hari 3	-.25000	.23311	.291	-.7228	.2228
	ekm 100 hari 3	-.50000	.23311	.039	-.9728	-.0272
	naocl hari 7	-.22500	.23311	.341	-.6978	.2478
	aquadest hari 7	-.17500	.23311	.458	-.6478	.2978
	ekm 80 hari 7	.15000	.23311	.524	-.3228	.6228
ekm 100 hari 7	.00000	.23311	1.000	-.4728	.4728	
ekm 100 hari 1	naocl hari 1	-.25000	.23311	.291	-.7228	.2228
	aquadest hari 1	.07500	.23311	.750	-.3978	.5478
	ekm 80 hari 1	.15000	.23311	.524	-.3228	.6228
	naocl hari 3	-.45000	.23311	.061	-.9228	.0228
	aquadest hari 3	-.35000	.23311	.142	-.8228	.1228
	ekm 80 hari 3	-.10000	.23311	.670	-.5728	.3728
	ekm 100 hari 3	-.35000	.23311	.142	-.8228	.1228
	naocl hari 7	-.07500	.23311	.750	-.5478	.3978
	aquadest hari 7	-.02500	.23311	.915	-.4978	.4478
	ekm 80 hari 7	.30000	.23311	.206	-.1728	.7728
ekm 100 hari 7	.15000	.23311	.524	-.3228	.6228	

naocl hari 3	naocl hari 1	.20000	.23311	.397	-.2728	.6728
	aquadest hari 1	.52500	.23311	.031	.0522	.9978
	ekm 80 hari 1	.60000	.23311	.014	.1272	1.0728
	ekm 100 hari 1	.45000	.23311	.061	-.0228	.9228
	aquadest hari 3	.10000	.23311	.670	-.3728	.5728
	ekm 80 hari 3	.35000	.23311	.142	-.1228	.8228
	ekm 100 hari 3	.10000	.23311	.670	-.3728	.5728
	naocl hari 7	.37500	.23311	.116	-.0978	.8478
	aquadest hari 7	.42500	.23311	.077	-.0478	.8978
	ekm 80 hari 7	.75000	.23311	.003	.2772	1.2228
	ekm 100 hari 7	.60000	.23311	.014	.1272	1.0728
aquadest hari 3	naocl hari 1	.10000	.23311	.670	-.3728	.5728
	aquadest hari 1	.42500	.23311	.077	-.0478	.8978
	ekm 80 hari 1	.50000	.23311	.039	.0272	.9728
	ekm 100 hari 1	.35000	.23311	.142	-.1228	.8228
	naocl hari 3	-.10000	.23311	.670	-.5728	.3728
	ekm 80 hari 3	.25000	.23311	.291	-.2228	.7228
	ekm 100 hari 3	.00000	.23311	1.000	-.4728	.4728
	naocl hari 7	.27500	.23311	.246	-.1978	.7478
	aquadest hari 7	.32500	.23311	.172	-.1478	.7978
	ekm 80 hari 7	.65000	.23311	.008	.1772	1.1228
	ekm 100 hari 7	.50000	.23311	.039	.0272	.9728
ekm 80 hari 3	naocl hari 1	-.15000	.23311	.524	-.6228	.3228
	aquadest hari 1	.17500	.23311	.458	-.2978	.6478
	ekm 80 hari 1	.25000	.23311	.291	-.2228	.7228
	ekm 100 hari 1	.10000	.23311	.670	-.3728	.5728
	naocl hari 3	-.35000	.23311	.142	-.8228	.1228
	aquadest hari 3	-.25000	.23311	.291	-.7228	.2228
	ekm 100 hari 3	-.25000	.23311	.291	-.7228	.2228
	naocl hari 7	.02500	.23311	.915	-.4478	.4978
	aquadest hari 7	.07500	.23311	.750	-.3978	.5478
	ekm 80 hari 7	.40000	.23311	.095	-.0728	.8728
	ekm 100 hari 7	.25000	.23311	.291	-.2228	.7228

ekm 100 hari 3	naocl hari 1	.10000	.23311	.670	-.3728	.5728
	aquadest hari 1	.42500	.23311	.077	-.0478	.8978
	ekm 80 hari 1	.50000	.23311	.039	.0272	.9728
	ekm 100 hari 1	.35000	.23311	.142	-.1228	.8228
	naocl hari 3	-.10000	.23311	.670	-.5728	.3728
	aquadest hari 3	.00000	.23311	1.000	-.4728	.4728
	ekm 80 hari 3	.25000	.23311	.291	-.2228	.7228
	naocl hari 7	.27500	.23311	.246	-.1978	.7478
	aquadest hari 7	.32500	.23311	.172	-.1478	.7978
	ekm 80 hari 7	.65000	.23311	.008	.1772	1.1228
ekm 100 hari 7	.50000	.23311	.039	.0272	.9728	
naocl hari 7	naocl hari 1	-.17500	.23311	.458	-.6478	.2978
	aquadest hari 1	.15000	.23311	.524	-.3228	.6228
	ekm 80 hari 1	.22500	.23311	.341	-.2478	.6978
	ekm 100 hari 1	.07500	.23311	.750	-.3978	.5478
	naocl hari 3	-.37500	.23311	.116	-.8478	.0978
	aquadest hari 3	-.27500	.23311	.246	-.7478	.1978
	ekm 80 hari 3	-.02500	.23311	.915	-.4978	.4478
	ekm 100 hari 3	-.27500	.23311	.246	-.7478	.1978
	aquadest hari 7	.05000	.23311	.831	-.4228	.5228
	ekm 80 hari 7	.37500	.23311	.116	-.0978	.8478
ekm 100 hari 7	.22500	.23311	.341	-.2478	.6978	
aquadest hari 7	naocl hari 1	-.22500	.23311	.341	-.6978	.2478
	aquadest hari 1	.10000	.23311	.670	-.3728	.5728
	ekm 80 hari 1	.17500	.23311	.458	-.2978	.6478
	ekm 100 hari 1	.02500	.23311	.915	-.4478	.4978
	naocl hari 3	-.42500	.23311	.077	-.8978	.0478
	aquadest hari 3	-.32500	.23311	.172	-.7978	.1478
	ekm 80 hari 3	-.07500	.23311	.750	-.5478	.3978
	ekm 100 hari 3	-.32500	.23311	.172	-.7978	.1478
	naocl hari 7	-.05000	.23311	.831	-.5228	.4228
	ekm 80 hari 7	.32500	.23311	.172	-.1478	.7978
ekm 100 hari 7	.17500	.23311	.458	-.2978	.6478	
ekm 80 hari 7	naocl hari 1	-.55000	.23311	.024	-1.0228	-.0772
	aquadest hari 1	-.22500	.23311	.341	-.8978	.2478
	ekm 80 hari 1	-.15000	.23311	.524	-.8228	.3228
	ekm 100 hari 1	-.30000	.23311	.206	-.7728	.1728
	naocl hari 3	-.75000	.23311	.003	-1.2228	-.2772
	aquadest hari 3	-.65000	.23311	.008	-1.1228	-.1772
	ekm 80 hari 3	-.40000	.23311	.095	-.8728	.0728
	ekm 100 hari 3	-.65000	.23311	.008	-1.1228	-.1772
	naocl hari 7	-.37500	.23311	.116	-.8478	.0978
	aquadest hari 7	-.32500	.23311	.172	-.7978	.1478
ekm 100 hari 7	-.15000	.23311	.524	-.8228	.3228	
ekm 100 hari 7	naocl hari 1	-.40000	.23311	.095	-.8728	.0728
	aquadest hari 1	-.07500	.23311	.750	-.5478	.3978
	ekm 80 hari 1	.00000	.23311	1.000	-.4728	.4728
	ekm 100 hari 1	-.15000	.23311	.524	-.8228	.3228
	naocl hari 3	-.60000	.23311	.014	-1.0728	-.1272
	aquadest hari 3	-.50000	.23311	.039	-.9728	-.0272
	ekm 80 hari 3	-.25000	.23311	.291	-.7228	.2228
	ekm 100 hari 3	-.50000	.23311	.039	-.9728	-.0272
	naocl hari 7	-.22500	.23311	.341	-.6978	.2478
	aquadest hari 7	-.17500	.23311	.458	-.6478	.2978
ekm 80 hari 7	.15000	.23311	.524	-.3228	.6228	

‡. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran D. Sertifikat *Ethical Clearance*

 <p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>	
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No. 200/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>	
Title of research protocol	: "The Irrigation Effect of Hull Mangosteen (<i>Garcinia mangostana L.</i>) Extract in The Wistar Rat (<i>Rattus norvegicus</i>) Root Canal on Macrophage Agregate Periapical Tissue"
Document approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Berliana Calpika Febriyanti
Member of research	: -
Responsible Physician	: Berliana Calpika Febriyanti
Date of approval	: September 25 th , 2018
Place of research	: 1) Laboratory of Biomedic Faculty of Dentistry Universitas Jember 2) Laboratory of Anatomy Pathology Faculty of Dentistry Universitas Jember
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, September 28th, 2018</p>	
 Chairperson of Faculty of Dentistry Universitas Jember (Dr. Hardyan P. M. Kes, Sp. Pros)	 Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember (Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)

Lampiran E. Surat Identifikasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 Jln. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Kotak Pos 159 Jember 68121
 Telp. (0331) 334293 Fax (0331) 330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 003 /2018

Ketua Laboratorium Botani Jurusan Biologi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh:

Nama : Berliana Calpika Febriyanti
 NIP/NIM/NIK : 151610101102
 Institusi asal : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

pada tanggal 15 April 2018, telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan Flora of Java, karangan C.A. Backer dan Bakhuizen van den Brink Jr. Volume 1, halaman 386-387, adalah :

No.	Genus	Species	Family
1.	Garcinia	<i>Garcinia mangostana</i> L.	Clusiaceae

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jember, 19 September 2018

Ketua Laboratorium Botani

Dra. Dwi Setyati, M.Si.

NIP. 196404171991032001

Determined by Dra. Dwi Setyati, M.Si

Lampiran F. Surat Ijin Penelitian

F.1 Surat Ijin Laboratorium Biomedik FKG Universitas Jember


KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎10331333536, Faks. 351991

05 DEC 2018

Nomor : 484/DUN25.8 TL/2018
 Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
 Kepala Bagian Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi
 Universitas Jember
 di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan proposal skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

1. Nama : Bertiana Calpika Febriyanti
2. NIM : 151616101102
3. Semester/Tahun : 2017/2018
4. Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Karimata V no.30 Jember
6. Judul Penelitian : Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah Makrofag Jaringan Periapikal
7. Lokasi Penelitian : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : Dental rat chair, kandang, dll
9. Waktu : Oktober 2018 – selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana Linn.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah Makrofag Jaringan Periapikal
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Sri Lestari, M.Kes
 2. drg. Sulistiyani, M.Kes.

Demikian atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.

an. Dekan,
 Wakil Dekan I,



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
 NIP. 196901121996012001

Lampiran F.2 Surat Ijin Penelitian Peminjaman Alat



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎0331) 335536, Faks. 331991

Nomor : 494/AUN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

05 DEC 2018

Kepada Yth.
Kepala Laboratorium Preklinik
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan proposal skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

1. Nama : Beritiana Calpika Febriyanti
2. NIM : 151610101102
3. Semester/Tahun : 2017/2018
4. Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Karimata V no.30 Jember
6. Judul Penelitian : Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah Makrofag Jaringan Periapikal
7. Lokasi Penelitian : Laboratorium Preklinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : Handpiece
9. Waktu : Oktober 2018 – selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana Linn.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah Makrofag Jaringan Periapikal
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Sri Lestari, M.Kes
2. drg. Sulistiyani, M.Kes

Demikian atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.



Dekan,
Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember
Dr. Irena IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196901121996012001

Lampiran F.3 Surat Ijin Laboratorium PA FKG Universitas Jember



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0531) 333536, Faks. 331991

Nomor : A340UN25.8 TL/2018
 Perihal : Ijin Penelitian

05 DEC 2018

Kepada Yth.
 Kepala Bagian Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi
 Universitas Jember
 di
 Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan proposal skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

1. Nama : Berhana Calpika Febriyanti
2. NIM : 151610101102
3. Semester/Tahun : 2017/2018
4. Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Karimata V no.30 Jember
6. Judul Penelitian : Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah Makrofag Jaringan Periapikal
7. Lokasi Penelitian : Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam :
9. Waktu : Oktober 2018 – selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efek Irigasi Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana Linn.*) pada Saluran Akar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Jumlah Makrofag Jaringan Periapikal
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Sri Lestari, M.Kes
 2. drg. Sulistiyani, M.Kes

Demikian atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.



an. Dekan,
 Wakil Dekan I,

Dr. Sri IDA Susilawati, M.Kes
 NIP. 196901121996012001