



**SITOTOKSISITAS EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia Mangostana L.*) SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN
IRIGASI SALURAN AKAR TERHADAP KULTUR SEL *LINES*
FIBROBLAS BHK-21**

SKRIPSI

Oleh
Hayyu Safira F.
NIM 121610101014

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**SITOTOKSISITAS EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia Mangostana L.*) SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN
IRIGASI SALURAN AKAR TERHADAP KULTUR SEL *LINES*
FIBROBLAS BHK-21**

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

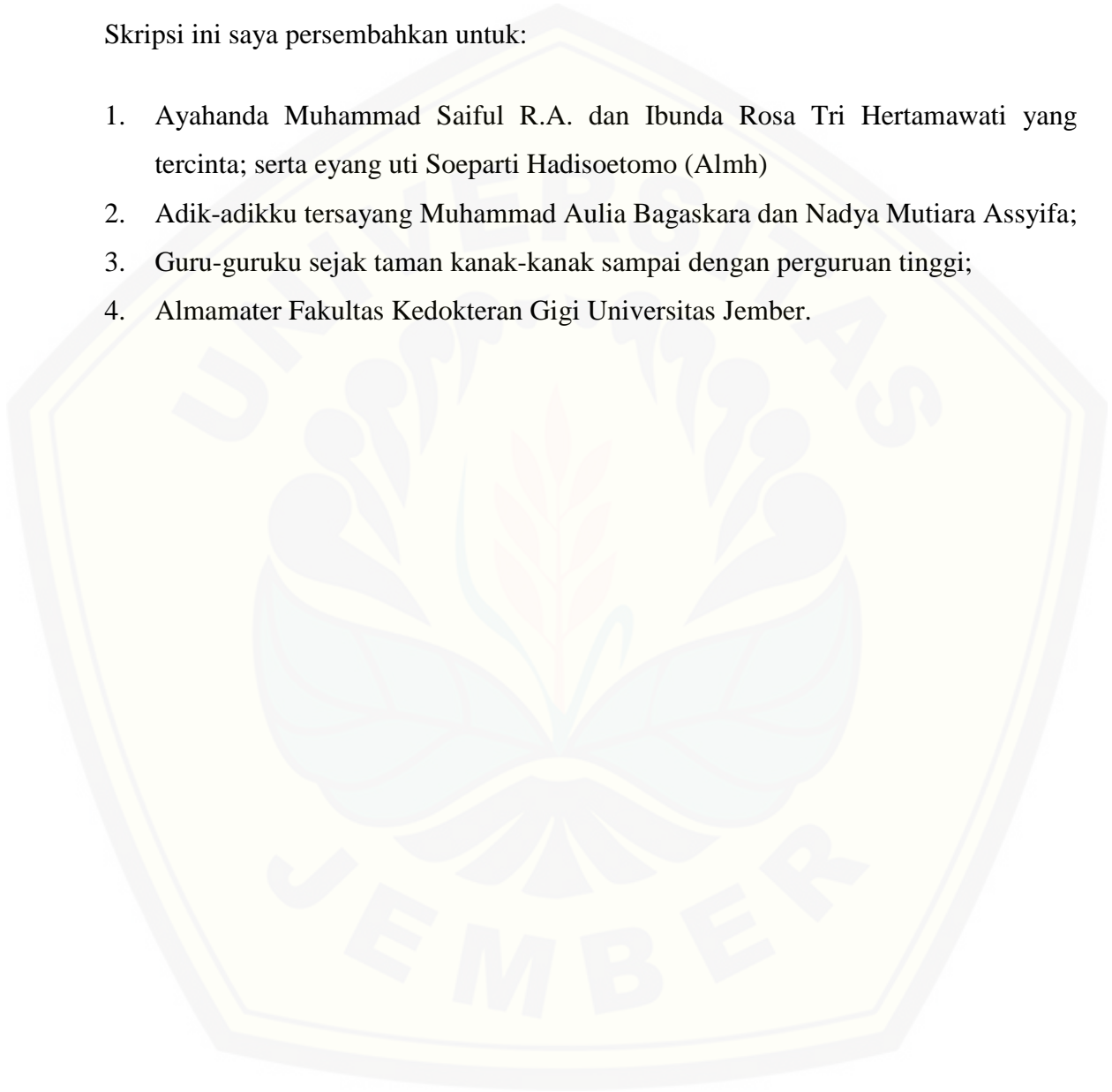
**Hayyu Safira F.
NIM 121610101014**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Muhammad Saiful R.A. dan Ibunda Rosa Tri Hertamawati yang tercinta; serta eyang uti Soeparti Hadisoetomo (Almh)
2. Adik-adikku tersayang Muhammad Aulia Bagaskara dan Nadya Mutiara Assyifa;
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTO

And with Him are the keys of the Unseen; none knows them but Him
And He knows whatever there is in the earth and in the sea; not a leaf falls but He
knows it.
(Q.S. Al-An'am : 59)^{*)}

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.
Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk
urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.
(Q.S. Al Insyirah : 6-8)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*.
Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Hayyu Safira F.

NIM : 121610101014

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Kultur Sel *Lines* Fibroblas BHK-21” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Maret 2016

Yang menyatakan,

Hayyu Safira F.

NIM 121610101014

SKRIPSI

**SITOTOKSISITAS EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia Mangostana L.*) SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN
IRIGASI SALURAN AKAR TERHADAP KULTUR SEL *LINES*
FIBROBLAS BHK-21**

Oleh

**Hayyu Safira
NIM 1216101014**

Pembimbing :

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

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Didin Erma I., M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Sitotoksitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Kultur Sel *Lines* Fibroblas BHK-21” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Kamis, 31 Maret 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

Drg. Yani Corvianindya R., M.KG

NIP 197308251998022001

drg. Pudji Astuti, M.Kes

NIP 196810201996012001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

Drg. Sri Lestari, M.Kes

NIP 196608191996012001

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

NIP 196903031997022001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Kultur Sel *Lines* Fibroblas BHK-21; Hayyu Safira F., 121610101014; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Preparasi saluran akar merupakan salah satu tindakan yang penting dalam perawatan saluran akar. Preparasi secara biomekanis 80% dapat menghilangkan bakteri atau mikroorganisme saluran akar, sisanya diperoleh dengan melakukan sterilisasi saluran akar menggunakan obat sterilisasi. Pembersihan saluran akar secara mekanis saja tidak cukup untuk menjadikan saluran akar terbebas dari bakteri. Diperlukan bahan irigasi untuk meminimalisasi adanya bakteri dan membersihkan saluran akar dari sisa-sisa jaringan organik. Salah satu bahan irigasi saluran akar yang paling sering digunakan adalah NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3% namun masing-masing memiliki kelemahan yaitu bersifat toksik dan destruktif jika berkontak dengan jaringan lunak, menyebabkan perubahan karakteristik dentin, berbau dan rasa tidak enak.

Dewasa ini telah banyak dikembangkan penggunaan bahan alami sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar, salah satunya adalah kulit manggis. Beberapa keuntungan penggunaan bahan alami ini sebagai alternatif di bidang kedokteran gigi adalah efek samping yang lebih sedikit, lebih murah, dan toleransi terhadap jaringan lebih baik.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Terdapat 4 kelompok penelitian yaitu ekstrak kulit manggis konsentrasi 100%, ekstrak kulit manggis 80%, NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3% dengan jumlah sampel masing-masing kelompok sebanyak 8 *well* yang ditanam pada *microplate* 96 *well*. Keempat kelompok

penelitian kemudian di uji sitotoksitasnya dengan menggunakan metode MTT assay dan hasilnya dibaca dengan Elisa reader dengan panjang gelombang 620 nm.

Selanjutnya data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Data diuji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov*, uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene test*, selanjutnya diuji beda dengan menggunakan *Kruskal Wallis* untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada seluruh kelompok penelitian dan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis konsentrasi 100% memiliki rata-rata persentase kehidupan sel paling tinggi yaitu 92,21%, diikuti oleh ekstrak kulit manggis konsentrasi 80% yang memiliki rata-rata persentase kehidupan sel sebesar 85,25%. Sedangkan NaOCl 2,5% memiliki rata-rata persentase kehidupan sel sebesar 23,47%, dan H₂O₂ 3% memiliki rata-rata persentase kehidupan sel paling rendah sebesar 21,7%. Dari pernyataan tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak kulit manggis konsentrasi 100% dengan persentase kehidupan sel 92,21% diklasifikasikan sebagai bahan non toksik.

PRAKATA

Alhamdulillah. Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan semesta alam atas rahmat, hidayah serta kuasa dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Kultur Sel *Lines* Fibroblas BHK-21”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Orang tua tersayang, Ayah M. Saiful R.A dan Ibu Rosa Tri Hertamawati yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan semangat;
2. Adik-adik tercinta M. Aulia Bagaskara dan Nadya Mutiara Assyifa yang dengan tulus memberikan doa dan dukungan dalam setiap langkah kakaknya;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. drg. Sri Lestari, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Didin Erma I., M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;

8. drg. Yani Corvianindya R., M.KG., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Pudji Astuti, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
9. Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes, Sp.OF selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
10. Staf Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember;
11. Staf Laboratorium Pusvetma Surabaya;
12. Sahabat-sahabat tersayang Roby, Mia, Anggi, Yesy, Dayinta, Laura, Ilma, Laily, Nafila, Zahrina, Fika, Imanda, Bunga dan Meta, mbak Puji yang telah selalu ada sejak SD hingga kini selalu memberikan dukungan dan semangat, serta menghibur dikala susah dalam pengerjaan skripsi ini;
13. Sahabat tersayang geng Muslimah, yang merupakan kumpulan wanita hebat yang selalu menemani dimasa perkuliahan ini, Gita, Balqis, Diyol, Zala, Dika, Lona, Ceha, Rachel, terimakasih atas semangat dan telah menjadi keluarga kedua saya.
14. Seluruh teman-teman FKG 2012. Terima kasih atas motivasi, kerja sama, persaudaraan, dan kekompakkannya selama ini;
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 31 Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

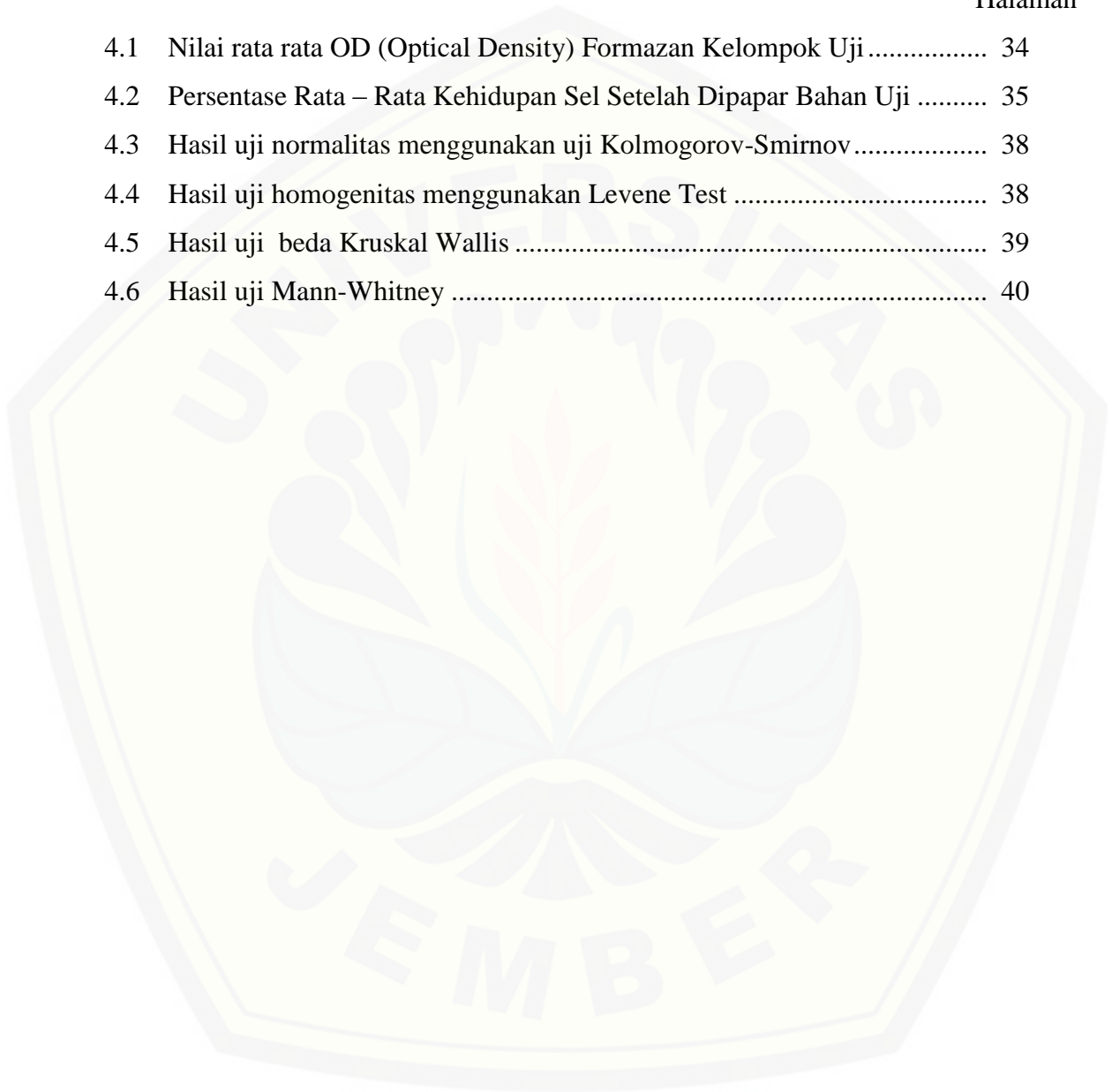
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Definisi Irigasi saluran Akar.....	6
2.2 Sodium Hipoklorit (NaOCl).....	7
2.3 Hidrogen Peroksida (H₂O₂).....	8
2.4 Buah Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> Linn)	9
2.4.1 Klasifikasi Buah Manggis.....	9
2.4.2 Kandungan Kulit Manggis	10
2.5 Biokompatibilitas	11

2.5.1 Sitotoksitas	11
2.5.2 Kultur Sel	13
2.5.3 Fibroblas	14
2.5.4 BHK-21	15
2.6 Kerangka Konsep.....	16
2.7 Hipotesa	17
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.2.1 Waktu Penelitian	18
3.2.2 Tempat Penelitian	18
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	18
3.3.1 Variabel Bebas	18
3.3.2 Variabel Terikat	18
3.3.3 Variabel Terkendali	18
3.4 Definisi Operasional.....	19
3.4.1 Ekstrak Kulit Buah Manggis.....	19
3.4.2 Hidrogen Peroksida(H ₂ O ₂)	19
3.4.3 Sodium Hipoklorit (NaOCl)	19
3.4.4 Sel Fibroblas	20
3.4.5 Sitotoksitas	20
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian.....	20
3.5.1 Sampel Penelitian.....	20
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
3.6.1 Alat Penelitian.....	21
3.6.2 Bahan Penelitian	21
3.7 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	22
3.7.1 Tahap persiapan	22

3.7.2 Pembuatan ekstrak kulit manggis	22
3.7.3 Uji Sitotoksisitas	26
3.8 Analisa Data	31
3.9 Alur Penelitian	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil.....	34
4.2 Pembahasan.....	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai rata rata OD (Optical Density) Formazan Kelompok Uji	34
4.2 Persentase Rata – Rata Kehidupan Sel Setelah Dipapar Bahan Uji	35
4.3 Hasil uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov	38
4.4 Hasil uji homogenitas menggunakan Levene Test	38
4.5 Hasil uji beda Kruskal Wallis	39
4.6 Hasil uji Mann-Whitney	40



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	16
3.1 Proses pengeringan buah manggis	23
3.2 Proses maserasi	24
3.3 Penyaringan hasil maserasi	25
3.4 Kultur <i>cell lines</i> BHK-21 dengan media <i>Eagles</i>	26
3.5 Persiapan sel fibroblas dalam <i>96-well microplate</i>	27
3.6 Proses bahan uji dimasukkan ke dalam well.....	28
3.7 Inkubasi Sel dan Penambahan pereaksi MTT.....	28
3.8 Pengadukan dan pembacaan dengan Elisa Reader	29
3.9 Alur penelitisn.....	32
4.1 Histogram rata-rata persentase kehidupan sel fibroblas BHK-21	33
4.2 Gambaran Mikroskopis Dari Koloni Sel Fibroblas	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian.....	56
B. Rumus Pengenceran Ekstrak	56
C. Hasil pembacaan <i>Elisa Reader</i>	57
D. Nilai Perhitungan Persentase Kehidupan Sel.....	58
E. Surat Keterangan	59
E.1 Surat Hasil Identifikasi Buah Manggis	59
E.2 Surat Ijin Penelitian	60
E.3 Surat keterangan pembuatan ekstrak.....	61
F. Analisis Data.....	62
B.1 Uji normalitas dengan <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	62
B.2 Uji Homogenitas dengan <i>Levene Statistic</i>	62
B.3 Uji Beda Non-Parametrik Menggunakan Uji Kruskal-Wallis	62
B.4 Uji <i>Uji Mann-Whitney</i>	63
C. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	67

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perawatan endodontik merupakan salah satu bagian dari ilmu kedokteran gigi yang menyangkut perawatan peradangan pada jaringan pulpa dan jaringan periapikal. Tiga fase dalam perawatan saluran akar adalah preparasi secara biomekanis (pembersihan dan pembentukan), desinfeksi/sterilisasi, dan pengisian saluran akar (Grossman dkk, 1995)

Salah satu tahap yang penting dalam perawatan saluran akar adalah preparasi saluran akar, tindakan ini secara biomekanis 80% dapat menghilangkan bakteri atau mikroorganisme saluran akar, sisanya diperoleh dengan melakukan sterilisasi saluran akar menggunakan obat sterilisasi (Agustin, 2005). Tindakan preparasi saluran akar dapat mendorong sisa jaringan nekrotik maupun bakteri tersebut ke foramen apical dan menyebabkan peradangan periradikular atau infeksi, maka dari itu selama preparasi dilakukan irigasi menggunakan bahan yang mampu mendesinfeksi dan melarutkan materi organik saluran akar (Ingle dan Baklan, 2008).

Bahan desinfeksi saluran akar adalah bahan yang digunakan untuk meminimalkan atau menghilangkan populasi mikroorganisme pada sistem saluran akar sebelum di obturasi (Gutmann, 2006). Ada bermacam-macam bahan desinfeksi yang banyak digunakan antara lain bahan-bahan *phenolic compound*, *formaldehyde* dan halogen yang termasuk desinfektan konvensional serta NaOCl (*sodium hipoklorit*), EDTA (*Ethylene diamine Tetraacetic acid*), *clorhexidine* dan CaOH (*Calcium Hidroksid*) yang merupakan bahan desinfektan saluran yang sekarang banyak dipakai. Bahan desinfektan konvensional sudah banyak ditinggalkan karena iritasinya yang tinggi terhadap jaringan. (Metzger, 2011).

Bahan irigasi yang biasa digunakan dalam kedokteran gigi yaitu hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, EDTA 15%, Sodium hipoklorit (NaOCl) 2,5% dan aquades. EDTA mampu melarutkan komponen anorganik smear layer, tetapi tidak mampu melarutkan komponen organik smear layer, dan efek antibakteri EDTA juga sangat

rendah serta bersifat erosif terhadap permukaan dentin jika dipaparkan lebih dari satu menit (Nasution, 2006). Oleh karena itu bahan irigasi yang masih sering digunakan H_2O_2 dan NaOCl.

Hidrogen peroksida (H_2O_2) mempunyai daya pembersih secara mekanis. Apabila Hidrogen peroksida kontak dengan bahan organik, bahan organik akan terurai dan menghasilkan oksigen nasen berupa buih putih yang secara mekanis akan mengangkat debris keluar dari saluran akar. Ketika oksigen nasen ini dilepaskan maka akan membantu penghancuran mikroorganisme anaerob. Efek pembersih secara mekanis tersebut merupakan fungsi terpenting dari H_2O_2 . Kekurangan dari Hidrogen peroksida yaitu oksigen nasen yang dihasilkan bila terperangkap dalam gigi akan menyebabkan rasa sakit, oleh karena itu dalam penggunaannya harus diikuti oleh larutan lain untuk menetralkan efek oksigen nasen tersebut. (Grossman, 1995).

NaOCl merupakan suatu larutan yang ekonomis (tidak mahal), mudah diperoleh, mudah digunakan, mampu melarutkan komponen organik smear layer dan memiliki efek bakterisidal (Walton dan Torabinejad, 2008). Sodium hypochlorite (NaOCl) dikenal dengan aktivitas antibakteri yang kuat, dapat membunuh bakteri dengan sangat cepat walaupun dalam konsentrasi yang rendah. Kekurangan NaOCl yaitu bersifat sangat toksik terhadap jaringan, serta dapat mengiritasi mata dan kulit (Nasution, 2006).

Dari uraian diatas, diketahui bahwa kedua bahan irigasi diatas masing-masing memiliki kelemahan, sedangkan larutan irigasi yang ideal seharusnya memiliki efek antibakteri dengan spektrum luas, namun tidak toksik. Kedua bahan irigasi diatas diketahui belum dapat memenuhi kriteria ideal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap bahan ekstrak alami yang efektif sebagai larutan irigasi.

Dewasa ini telah banyak dikembangkan penggunaan bahan-bahan alami sebagai bahan alternatif kedokteran, terutama untuk bahan kedokteran gigi yang harganya semakin mahal dan menimbulkan efek samping. Obat-obatan yang digunakan untuk perawatan gigi dan sterilisasi saluran akar sampai saat ini masih berasal dari bahan kimia dan jarang yang menggunakan bahan obat yang berasal dari bahan alami

(Rahardjo dalam Choirah, 2006). Salah satu bahan alami yang dapat dipertimbangkan sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar adalah kulit manggis. Beberapa keuntungan penggunaan bahan alami ini sebagai alternatif di bidang kedokteran gigi adalah efek samping yang lebih sedikit, lebih murah, dan toleransi terhadap jaringan lebih baik (Vermani, 2002). Hal inilah yang dijadikan dasar dalam pemanfaatan tanaman obat dalam hal ini adalah kulit manggis.

Buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Buah manggis memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Dagingnya mampu mengobati diare, amandel, wasir, sakit gigi, peluruh dahak dan keputihan. Kulit buah manggis, di Srilanka, India dan Myanmar, secara empiris dimanfaatkan sebagai obat sariawan, diare dan eksim (Sahroni, 2012).

Kulit buah manggis yang dimaksud adalah kulit buah manggis yang lunak (telah dipisahkan dari kulit luar yang bersifat keras). Senyawa berkhasiat yang terdapat di dalam kulit buah manggis antara lain xanton, alkaloida, flavonoid, tanin, resin, triterpen, saponin, kuinon dan steroid (Suksamrarn dkk., 2003; Jung dkk., 2006). Xanthone kulit manggis terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang diperoleh dari senyawa turunannya yakni, *alpha-mangostin*. (Kaomongkolgit, 2013). Flavonoid diduga dapat merusak membran sel karena sifatnya yang lipofilik dan kemampuannya membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, sedangkan alkaloid sudah digunakan berabad-abad dalam bidang medis karena dapat melawan sel asing melalui ikatan DNA sel sehingga mengganggu fungsi sel (Nevi, 2009). Saponin merupakan deterjen alami. Senyawa ini memiliki sifat sebagai surfaktan sehingga mampu menurunkan tegangan permukaan dinding saluran akar dan melarutkan kotoran (Risya, 2010).

Windriana (2014) menemukan bahwa ekstrak kulit manggis konsentrasi 80% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S.viridans* setara dengan larutan NaOCl 2,5%. Penelitian lainnya dilakukan Uswatun (2015) untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit buah manggis konsentrasi 100% dalam membersihkan *smear layer* pada dinding saluran akar gigi. Lapisan *smear* terbentuk akibat tindakan

preparasi saluran akar yakni akibat gesekan alat endodontik dengan dinding saluran akar, lapisan *smear* terdiri atas jaringan organik dan anorganik, termasuk fragmen odontoblas, mikroorganisme, dan jaringan nekrotik yang melekat pada dinding saluran akar dan menutupi dinding saluran akar (Beltz dkk, 2003; Torabinejad dkk, 2003). Penelitian yang dilakukan Uswatun (2015) menemukan bahwa konsentrasi ekstrak kulit buah manggis 100% dapat membersihkan lapisan *smear* sama efektifnya dengan Hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%.

Namun hasil kedua penelitian diatas belum teruji dari sisi biokompatibilitasnya apabila akan digunakan sebagai bahan alternatif irigasi saluran akar. Tahap awal menilai suatu bahan tersebut bersifat biokompatibel dilakukan dengan cara uji sitotoksisitas. Uji sitotoksisitas adalah bagian dari evaluasi bahan kedokteran gigi dan diperlukan untuk prosedur *screening* standar. Uji sitotoksisitas merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui apakah bahan tersebut memenuhi syarat untuk dapat diterima dalam jaringan. Oleh karena itu perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang uji sitotoksisitas ekstrak kulit buah manggis untuk mengetahui apakah ekstrak kulit buah manggis sebagai bahan alternatif irigasi saluran akar memiliki efek toksik terhadap jaringan.

Pengujian sitotoksisitas yang paling sederhana dapat dilakukan dengan menguji pada kultur sel dan sel yang dapat dipakai untuk uji sitotoksisitas adalah sel fibroblas (Freshney, 2011). Fibroblas merupakan sel yang dominan dalam jaringan penyangga gigi dan merupakan sel-sel ligamen periodontal yang terpenting. Jenis fibroblas yang digunakan dalam teknik kultur sel *lines* yaitu Baby Hamster Kidney-21 (BHK-21) oleh karena sifat-sifat sel ini mirip dengan fibroblas jaringan periapikal gigi (Freshney, 2011).

Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksisitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode *MTT assay*. Uji *MTT assay* merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode ini merupakan metode kolorimetrik, dimana pereaksi MTT ini merupakan garam tetrazolium yang dapat dipecah menjadi kristal

formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan ELISA reader (Junedy, 2005).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti ingin melakukan penelitian tentang toksisitas ekstrak kulit manggis 80%, 100%, NaOCl 2,5%, dan H₂O₂ 3% sebagai bahan irigasi dengan uji toksisitas terhadap sel fibroblas BHK-21 dengan metode *MTT assay*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa persentase kehidupan sel fibroblas BHK-21 setelah dipapar oleh Ekstrak Kulit Manggis konsentrasi 80%, 100%, NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%
2. Bagaimana toksisitas Ekstrak Kulit Manggis konsentrasi 80%, 100% pada sel fibroblas BHK-21 dibandingkan dengan NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%

1.3 Tujuan penelitian

1. Mengetahui persentase kehidupan sel fibroblas BHK-21 setelah dipapar oleh Ekstrak Kulit Manggis konsentrasi 80%, 100%, NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%
2. Mengetahui toksisitas Ekstrak Kulit Manggis konsentrasi 80%, 100% pada sel fibroblas BHK-21 dibandingkan dengan NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%

1.4 Manfaat penelitian

1. Memberikan informasi kepada dokter gigi atau klinisi tentang manfaat ekstrak kulit manggis sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar
2. Menambah wawasan ilmu di bidang kedokteran gigi terhadap pengembangan teknologi bahan irigasi saluran akar untuk diproduksi dan dipergunakan secara masal
3. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Irigasi Saluran Akar

Perawatan saluran akar merupakan salah satu perawatan yang diindikasikan untuk infeksi yang mengenai jaringan pulpa gigi. Tahapan perawatan saluran akar meliputi; preparasi saluran akar yang meliputi pembersihan dan pembentukan (biomekanis), disinfeksi, dan pengisian saluran akar. Keberhasilan dari suatu pembersihan dan pembentukan saluran akar adalah dengan tersingkirnya sisa-sisa jaringan pulpa, bakteri, dan toksin dari saluran akar. Tujuan utama pembersihan saluran akar adalah membuang jaringan yang rusak, mengeliminasi mikroorganism yang terdapat dalam saluran akar dan tubulus dentin serta mencegah terjadinya kontaminasi setelah perawatan (Nasution, 2006).

Irigasi merupakan suatu tindakan mencuci dengan air mengalir atau cairan lain. Membersihkan debris dari saluran akar sebelum dan selama preparasi saluran akar merupakan hal yang sangat penting untuk mencegah terdorongnya debris ke daerah apeks. Pembersihan debris ini harus dilakukan karena debris dapat berperan sebagai sumber iritasi yang terus menerus (Grossman dkk, 1995).

Bahan irigasi saluran akar harus memiliki sifat-sifat yaitu dapat larut dalam air, tidak mempunyai sifat toksik, tidak menimbulkan iritasi, tidak menimbulkan perubahan warna, tidak menimbulkan karat, tidak pekat, mempunyai daya penetrasi yang tinggi, tidak berbau dan tidak berwarna, sebagai antiseptik yang luas, ekonomis dan stabil, bekerja secara cepat, dapat melarutkan protein dan bahan anorganik (Heuer dalam Canderasari, 2004).

2.1.1 Fungsi bahan irigasi:

Menurut Tarigan (2004) fungsi bahan irigasi adalah sebagai berikut :

- a. Melarutkan debris terutama organik dan anorganik yang ada dalam saluran akar dan daerah yang tersembunyi karena daerah ini dapat menjadi tempat bakteri berkembang biak.
- b. Mendesinfeksi saluran akar.

- c. Membersihkan serpihan dentin sehingga mencegah penyumbatan saluran akar.
- d. Sebagai pelumas instrumen pada saat preparasi saluran akar.

2.2 Sodium Hipoklorit (NaOCl)

Sodium Hipoklorit (NaOCl) merupakan salah satu bahan irigasi saluran akar yang telah digunakan sejak 90 tahun yang lalu. Sodium Hipoklorit (NaOCl) dijadikan pilihan sebagai bahan irigasi saluran akar karena aktivitas terhadap jaringan nekrotik, daya antibakteri dan sifat pelumasnya (Yusof, 2009). Sodium Hipoklorit (NaOCl) memiliki beberapa sifat, antara lain :

- a. Sifat biologis

NaOCl merupakan suatu bahan yang bersifat proteolitik. Jaringan-jaringan dan debris dilarutkan melalui proses biomekanis yang kompleks. Berbagai konsentrasi NaOCl yang bervariasi dari 0,5%-2,5% telah digunakan. Konsentrasi 2,5% diketahui lebih biokompatibilitas. Semakin tinggi konsentrasi NaOCl maka akan semakin merusak jaringan-jaringan vital serta tidak meningkatkan penurunan jumlah bakteri (Mehdipour, 2007).

- b. Sifat kimia

Larutan NaOCl adalah alkali kuat, hipertonik dan biasanya mempunyai konsentrasi 10%-14% klorin yang tersedia. Semakin tinggi konsentrasi klorin, NaOCl menjadi semakin tidak stabil. Larutan ini dipengaruhi oleh waktu, suhu, kontak terhadap cahaya serta kontaminasi dengan ion metal (Clarkson dalam Yusof, 2009). NaOCl harus disimpan di tempat yang gelap dan dingin agar NaOCl tidak rusak (Tarigan, 2004)

- c. Toksisitas

Penggunaan konsentrasi NaOCl mencapai 5,25% bersifat toksik terhadap jaringan vital terutama jaringan periapikal gigi. Efek toksisitas NaOCl yang mengenai jaringan periapikal ini dapat mengakibatkan timbul rasa sakit yang cepat (2-6 menit), pembengkakan atau odema di dalam jaringan lunak,

penjalaran odema ke daerah yang lebih luas di wajah seperti pada pipi, daerah periorbital maupun bibir. Selain itu, dapat juga terjadi ekimosis pada kulit dan mukosa akrobat perdarahan interstitial (Mehdipour, 2007).

2.3 Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Hidrogen peroksida (H_2O_2) adalah cairan asam lemah yang memiliki pH 5. Hidrogen peroksida merupakan cairan tidak berwarna, tidak berbau, mengandung sulfat, bersifat kaustik, tidak stabil sehingga harus disimpan dalam botol yang tidak tembus cahaya, dan terbentuk dari reaksi asam sulfat dan barium peroksida (Grossman, 1995). Hidrogen Peroksida (H_2O_2) merupakan agen pengoksidasi atau *oxidizing agent* dengan daya antibakteri spektrum luas (Hasanudin, 1991).

Pada kedokteran gigi biasanya digunakan larutan dengan konsentrasi 3-5%. Konsentrasi yang sering digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar gigi adalah 3%. Hidrogen peroksida 3% merupakan bakterisid yang lemah namun mempunyai kemampuan untuk membersihkan debris pada luka infeksi (Grossman dkk, 1995 ; Weine, 1989).

Hidrogen peroksida ini bila kontak dengan jaringan atau darah akan menyebabkan enzim peroksidase atau katalase pada jaringan, darah dan saliva yang berfungsi melindungi jaringan akan memecah H_2O_2 menjadi air dan oksigen bebas. Efek antimikroba terjadi dalam periode yang singkat tersebut (Nasution, 1994).

Niwa (1997) menyatakan bahwa H_2O_2 merupakan salah satu reactive oxygen species (ROS) atau radikal bebas karena memiliki kelebihan atom O. Atom O ini berusaha menstabilkan diri menjadi O_2 yaitu bereaksi dengan molekul lain yang juga mengandung atom O sehingga menjadi reaktif sekali. Bila kelebihan atom O tersebut melebur dengan atom O di dalam bakteri akan menghasilkan busa atau buih putih. Bakteri tersebut akan dihancurkan oleh oksigen yang dilepaskan dari H_2O_2 .

Oksigen dari H_2O_2 bila terperangkap dalam saluran akar dapat menimbulkan rasa sakit dan juga dapat terjadi empisema sehingga membahayakan penderita. Untuk

menetralsir oksigen tersebut maka penggunaan H₂O₂ 3% sebagai bahan irigasi saluran akar diikuti dengan akuades steril (Grossman dkk, 2011).

2.4 Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah tanaman daerah tropika yang diyakini berasal dari Kepulauan Nusantara. Tumbuh hingga mencapai 7 sampai 25 meter dengan buah berwarna merah keunguan ketika matang meskipun ada pula varian yang kulitnya berwarna merah. Manggis merupakan salah satu buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) sering disebut sebagai *Queens of Tropical Fruit*, karena berasal dari daerah tropis dan memiliki rasa yang lezat. Buah ini juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional, mulai dari daun, buah, akar dan juga kulit batang (Dweck, 2002; Suyanti dan Setyadjit, 2007). Secara tradisional buah manggis digunakan sebagai obat sariawan, wasir dan luka. Kulit buah manggis dimanfaatkan sebagai pewarna tekstil dan air rebusannya digunakan untuk obat tradisional (Prihatman, 2000).

2.4.1 Klasifikasi Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Klasifikasi buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) menurut United States Departemen of Agriculture/USDA (2008) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Dilleniidae</i>
Ordo	: <i>Theales</i>
Family	: <i>Clusiaceae</i>
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> Linn.

2.4.2 Kandungan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Kulit buah manggis yang dimaksud adalah kulit buah manggis yang lunak (telah dipisahkan dari kulit luar yang bersifat keras). Kulit buah manggis mengandung antosianin seperti Cyanidin-3-sophoroside dan Cyanidin-3-glucoside, getah kuning, *crystallizable mangostin*, xanthone, tanin, flavonoid, triterpenoid, kuinon dan resin (Sahroni, 2012). Beberapa senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang berperan penting dalam aktivitas farmakologi adalah golongan xanton. Senyawa xanton yang telah teridentifikasi, diantaranya adalah 1,3,6-*trihidroksi-7-metoksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on* dan 1,3,6,7-*tetrahidroksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on*. Keduanya lebih dikenal dengan nama *alfa-mangostin* dan *gamma-mangostin* (Jinsart dalam Nugroho, 2007).

Kulit buah dan daun manggis juga memiliki senyawa xanthone, salah satunya adalah mangostin yang tergolong kedalam senyawa polyphenol yang merupakan antioksidan, dimana senyawa polyphenol dapat menghambat kerja enzim bakteri dengan mengoksidasi senyawa karena bereaksi dengan kelompok sulfhydryl atau interaksi nonspesifik dengan protein (Cowan, 1999). Moongkarndi *et al.* (2004) melaporkan bahwa ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan. Weecharansan *et al.* (2006) juga menindak-lanjuti hasil penelitian tersebut dengan melakukan penelitian aktivitas antioksidan beberapa ekstrak kulit buah manggis. Metode yang digunakan adalah penangkapan radikal bebas 2,2-*difenil-1-pikrilhidrazil*. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ekstrak mempunyai potensi sebagai penangkal radikal bebas. Berkaitan dengan aktivitas antioksidan tersebut, kedua ekstrak tersebut juga mampu menunjukkan aktivitas neuroprotektif pada sel NG108-15. Seiring dengan hasil tersebut, Jung *et al.* (2006) melakukan penelitian aktivitas antioksidan dari semua senyawa kandungan kulit buah manggis, dari hasil skrining aktivitas antioksidan dari senyawa-senyawa tersebut, yang menunjukkan aktivitas poten adalah : 8-*hidroksikudraxanton*, gartanin, *alpha-mangostin*, *gamma-mangostin* dan *smeathxanton* A. Kulit buah manggis juga

memiliki senyawa triterpen yang tergolong senyawa terpenoid. Senyawa terpenoid aktif melawan bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri (Cowan, 1999).

2.5 Biokompatibilitas

Salah satu parameter yang harus diperhatikan dalam pemilihan bahan kedokteran gigi adalah sifat biokompatibilitasnya (Glantz, 1998). Biokompatibilitas adalah keadaan yang harmonis dan tidak mempunyai sifat toksik yang diukur berdasarkan sitotoksitas lokal, respon sistemik, alergi dan karsinogenitas (Dorland, 1995). Suatu bahan dikatakan memiliki sifat biokompatibilitas yang baik apabila terdapat kesesuaian yang baik antara bahan atau alat dengan jaringan dan cairan tubuh (Craig, 1997). Tes biokompatibilitas menurut Anusavice (1996) diklasifikasikan dalam 3 tingkatan, yaitu :

- a. Uji pendahuluan (*primary test*) merupakan uji toksisitas yang diletakkan secara langsung pada kultur sel atau di atas membran yang menutupi kultur sel.
- b. Uji sekunder (*secondary test*) ialah mengevaluasi berdasarkan potensi radang atau imunogenik termasuk didalamnya adalah uji toksisitas sistemik, uji toksisitas inhalasi, uji iritasi kulit, uji hipersensitivitas dan implantasi.
- c. Uji aplikasi klinis yaitu bahan dievaluasi sesuai dengan pemakaian secara klinis.

2.5.1 Sitotoksitas

Suatu bahan dalam kedokteran gigi sebelum digunakan di klinis harus melalui berbagai pengujian antara lain *styles cell transformation test*, *cytotoxicity test*. Uji sitotoksitas merupakan uji yang dilakukan pada tahap awal pengujian toksisitas sebuah bahan (Siregar dan Hadijono, 2000).

Sitotoksitas adalah sejauh mana agen memiliki tindakan destruktif spesifik pada sel-sel tertentu. Uji Sitotoksitas adalah suatu uji bahan pada jaringan yang

dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bahan tersebut toksik. Uji sitotoksitas juga merupakan salah satu tahap pengujian paling awal dan penting dilakukan terhadap suatu bahan yang akan dipakai di bidang kedokteran gigi. Uji sitotoksitas dilakukan untuk mengetahui apakah bahan tersebut memenuhi syarat untuk dapat diterima jaringan yaitu tidak membahayakan pulpa dan jaringan lunak, tidak mengandung substansi yang bisa menyebabkan respon sistemik bila berdifusi dan diadsorpsi ke dalam sistem sirkulasi, bebas dari agen sensitisasi yang dapat menyebabkan respon alergi, dan tidak berpotensi karsinogenik (neviyanti,2004). Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode *MTT assay* (neviyanti,2004).

Uji pada sel fibroblas gingiva manusia termasuk dalam uji primer, yaitu toksisitas dari bahan secara *in vitro* dan dikontakkan secara langsung pada kultur sel/jaringan. Metode yang digunakan dalam uji sitotoksitas adalah dengan uji enzimatik menggunakan pereaksi 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT). Dasar Uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dan kultur sel. Uji ini banyak digunakan untuk mengukur proliferasi seluler secara kuantitatif atau untuk mengukur jumlah sel yang hidup. Heravi *et al* (2013) mengelompokkan tingkat toksisitas suatu bahan menurut klasifikasi jumlah sel yang hidup yaitu:

- a. Sel yang hidup lebih dari 90% dapat diklasifikasikan sebagai non-toksik.
- b. Sel yang hidup diantara 60% hingga 90% dapat diklasifikasikan sebagai sedikit toksik.
- c. Sel yang hidup diantara 30% hingga 59% dapat diklasifikasikan sebagai cukup toksik.
- d. Sel yang hidup kurang dari 30% dapat diklasifikasikan sebagai sangat toksik.

MTT assay yang memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa digunakan

untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Dasar uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Metode ini dapat digunakan untuk mengukur proliferasi sel secara kolorimetri (Nevi, 2009).

Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [*3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide*] (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu. Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif. Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup (Nevi, 2009).

2.5.2 Kultur Sel

Kultur sel merupakan suatu metode untuk menguji toksisitas dari suatu bahan. Menurut Suprpto (1999) berdasarkan sifat pertumbuhannya metode kultur sel dapat diklasifikasikan menjadi :

a. Kultur primer (*primary culture*)

Kultur sel yang berasal langsung dari organisme asalnya. Bahan kultur diambil secara langsung dari hewan atau manusia, dapat berupa organ, jaringan maupun sel. Umumnya kultur primer berumur pendek, yaitu hanya dapat dilakukan subkultur beberapa kali saja, sesudah itu akan mati.

b. Kultur sel diploid (*Diploid cell culture*)

Kultur dari sel-sel diploid yang berasal dari hasil kultur primer dan dapat dilakukan subkultur sampai sebanyak 50-70 kali. Umumnya akan mati setelah mencapai subkultur 50-70 kali.

c. Kultur *cell lines* atau sel kontinyu (*continuous cell culture*)

Kultur yang didapat dari sel-sel yang telah mengalami transformasi atau yang berasal dari sel neoplasma, umumnya dapat dilakukan subkultur sampai tidak terbatas. Cell lines yang banyak digunakan adalah sel L-929 yang berasal dari fibroblas paru-paru tikus, sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster.

Untuk mendapatkan cell lines dapat melalui :

- a. Pertumbuhan sel setelah melewati periode krisis.
- b. Pertumbuhan sel yang berasal dari jaringan tumor ganas.
- c. Pertumbuhan sel yang telah dirubah sifatnya dengan menggunakan virus onkogenik.

Keuntungan menggunakan cell lines yaitu : subkultur dapat dilakukan lebih dari 50 – 70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi (Freshney, 2011). Metode kultur sel dengan menggunakan cell lines merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menguji toksisitas bahan dan obat dalam kedokteran gigi.

2.5.3 Fibroblas

Fibroblas merupakan salah satu tipe sel yang digunakan untuk uji sitotoksitas. Sel fibroblas merupakan sel mesenkim dasar pada jaringan dewasa yang berfungsi untuk mensintesa komponen-komponen jaringan pengikat yaitu kolagen dan mukopolisakarida (Leeson, 1996).

Sel fibroblas (*spindle shape*) adalah sel jenis eukariotik (memiliki dinding/membran inti) yang merupakan tipe sel yang paling umum terlihat dalam jumlah paling besar di pulpa mahkota. Bentuknya seperti kumparan dengan nuklei ovoid dan prosesus sitoplasmik yang panjang. Biasanya sejajar dengan serabut kolagen, dengan prosesus yang terbungkus serabut (Johnson, 2009).

Seperti odontoblas, penonjolan organel sitoplasmanya berubah-ubah sesuai dengan aktivitasnya. Makin aktif selnya, makin menonjol organel dan komponen lainnya yang diperlukan untuk sintesis dan sekresi. Akan tetapi tidak seperti

odontoblas, sel-sel ini mengalami kematian apoptosis dan diganti jika perlu oleh maturasi dari sel-sel yang kurang terdiferensiasi (Walton, 2008).

Pada waktu irigasi saluran akar, bahan irigasi dapat berdifusi dan menekan ke jaringan periapikal dan ligamen periodontal serta dapat menyebabkan iritasi seperti yang disebabkan oleh larutan NaOCl (Nevi, 2009). Sementara komponen jaringan ini yang terpenting adalah sel fibroblas dimana sel fibroblas adalah tipe sel yang paling umum terlihat dalam jumlah yang besar di pulpa mahkota serta merupakan substansi dasar penyusun jaringan periapikal dan ligamen periodontal (Walter, 1999).

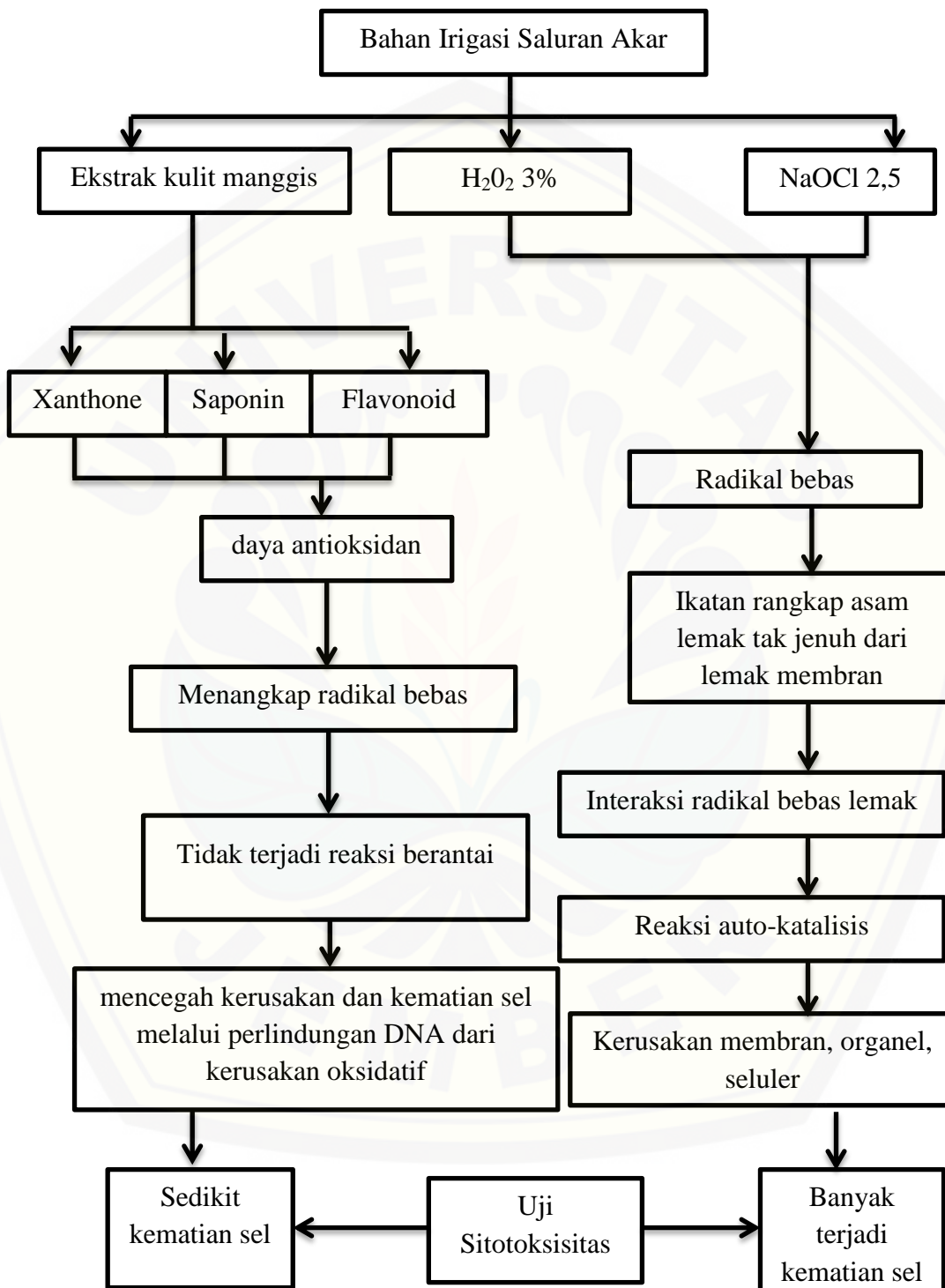
Fungsi sel ini menghasilkan, mensintesis, mempertahankan kolagen dan matriks serta zat dasar pulpa dan mengubah struktur pulpa jika ada penyakit (walton, 2008). Dapat berasal dari sel mesenkimal pulpa yang tidak berkembang atau dari bagian fibroblas yang ada. Bila bertambah tua, sel ini menjadi lebih bulat, dengan nuklei bulat dan prosesus sitoplasmik yang pendek. Perubahan bentuk disebabkan oleh pengurangan aktivitas sel karena bertambah tua (Nevi, 2009).

Fibroblas merupakan salah satu tipe sel yang digunakan untuk uji toksisitas dengan kultur sel. Jenis sel fibroblas yang digunakan dalam kultur sel yaitu sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster dan sel L-929 yang berasal dari fibroblas paru-paru tikus (Freshney, 2011).

2.5.4 Fibroblas BHK-21

Dua jenis sel yang digunakan untuk uji toksisitas dalam kultur sel adalah L-929 yang berasal dari fibroblas paru-paru tikus dan sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster. Sel BHK-21 lebih banyak digunakan untuk menguji sitotoksitas dari bahan dan obat-obatan di bidang kedokteran gigi, hal ini disebabkan oleh karena sel fibroblas Baby Hamster Kidney (BHK-21) merupakan bahan kultur terbaik yang berasal dari jaringan embrionik sehingga mudah tumbuh dan mudah dilakukan subkultur ulang (Wulandari, 2006).

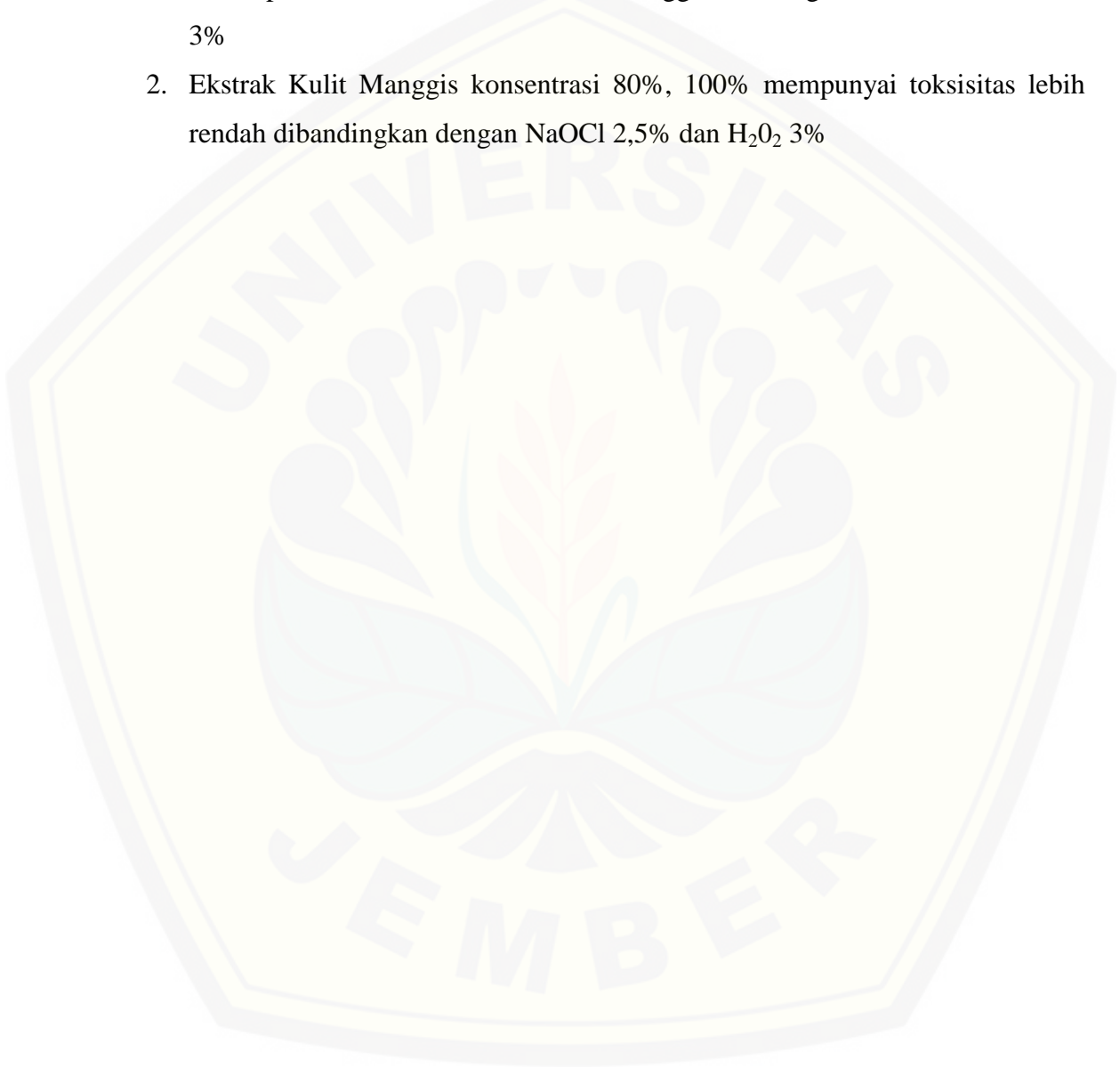
2.6 KERANGKA KONSEP



Gambar 2.1 Kerangka Konsep Penelitian

2.7 HIPOTESA PENELITIAN

1. Ekstrak Kulit Manggis konsentrasi 80%, 100% mempunyai persentase kehidupan sel fibroblas BHK-21 lebih tinggi dibanding NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%
2. Ekstrak Kulit Manggis konsentrasi 80%, 100% mempunyai toksisitas lebih rendah dibandingkan dengan NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design* (Notoadmojo, 2005)

3.2 Tempat dan waktu penelitian

3.2.1 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya. Pembuatan ekstrak kulit buah manggis dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Bulan November – Desember 2015

3.3 Identifikasi Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit buah manggis konsentrasi 80 % dan 100%

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel fibroblas BHK-21 yang hidup

3.3.3 Variabel terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Buah manggis yang sesuai kriteria sampel :
 - Buah manggis yang digunakan adalah spesies *Garcinia mangostana* L.
 - Buah manggis yang telah masak.
 - Warna kulit buah manggis dominan berwarna ungu kemerahan tanpa memperhitungkan ukuran diameter buah manggis.

- Kulit buah manggis yang digunakan adalah yang lunak (telah dipisahkan dari kulit luar yang bersifat keras).
- b. Sterilisasi alat, bahan coba, dan media
- c. Media pertumbuhan sel fibroblas (*Eagle*)
- d. Kultur *cell lines* BHK-21
- e. Suhu inkubasi uji sitotoksisitas (37° C) dan suasana CO₂ 5%
- f. Waktu pengamatan (24 jam)

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Ekstrak Kulit Buah Manggis

Ekstrak kulit buah manggis adalah bahan yang dibuat dari kulit buah manggis yang lunak (telah dipisahkan dari kulit luar yang bersifat keras). Ekstrak kulit manggis merupakan sediaan kental (semisolid) yang didapatkan dari hasil maserasi etanol 96% jenis *Garcinia mangostana L.* yang telah dikeringkan dan telah dibentuk serbuk. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi 100% dan 80% .

3.4.2 Hidrogen Peroksida (H₂O₂)

Hidrogen peroksida (H₂O₂) adalah cairan asam lemah yang memiliki pH 5. Hidrogen peroksida merupakan cairan tidak berwarna, tidak berbau, mengandung sulfat, bersifat kaustik, tidak stabil sehingga harus disimpan dalam botol yang tidak tembus cahaya, dan terbentuk dari reaksi asam sulfat dan barium peroksida. H₂O₂ merupakan salah satu bahan irigasi yang sering digunakan karena mudah didapat dan dapat mengangkat kotoran dari hasil preparasi saluran akar. H₂O₂ yang digunakan dalam penelitian ini adalah H₂O₂ produksi *OneMed* dengan konsentrasi 3%.

3.4.3 Sodium Hipoklorit (NaOCl)

Sodium Hipoklorit (NaOCl) adalah larutan yang mengandung klorin dan termasuk golongan halogen. NaOCl merupakan salah satu bahan kedokteran gigi yang direkomendasikan sebagai bahan irigasi saluran akar saat melakukan perawatan

endodontik. NaOCl yang digunakan dalam penelitian ini adalah NaOCl 5% yang kemudian diencerkan dengan aquades steril sehingga didapatkan konsentrasi 2,5%.

3.4.4 Sel fibroblas

Sel fibroblas adalah sel yang berasal stem sel Fibroblas BHK-21 yang berasal dari Laboratorium Pusat Veterinaria Farma UNAIR (Surabaya) dan dibiakkan secara murni pada media *Eagle*.

3.4.5 Sitotoksitas

Sitotoksitas adalah viabilitas sel fibroblas BHK-21 terhadap ekstrak kulit buah manggis, dihitung memakai metode MTT assay dengan menggunakan ELISA reader (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) pada panjang gelombang 620 nm dengan gambaran yang terbentuk biru formazan pada sel yang hidup.

3.5 Sampel Penelitian

Besar sampel didapat dengan penghitungan rumus dari Steel dan Torrie (1995), yaitu berjumlah minimal 8 sampel untuk setiap kelompok penelitian. Sehingga jumlah keseluruhan besar sampel dari 6 kelompok penelitian yang digunakan adalah sebanyak 48 sampel (Lampiran A).

3.6 Alat dan bahan penelitian

2.6.1 Bahan Penelitian

1. Kulit buah manggis
2. Etanol 96%
3. *Aquadest sterile* (Otsuka)
4. Larutan NaOCl 2,5 %
5. Larutan H₂O₂ 3% (*OneMed*)
6. Kultur sel : *Cell line* BHK-21
7. Antibiotika : Penisilin streptomisin (penstrep) 1%
8. Antifungi : *fungizone* 100 unit/ml
9. Fetal bovine serum (FBS) 10%

10. Media *Eagles*
11. Pencuci serum : *Phosphate Buffer Saline (PBS)*
12. MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide*)
(*Sigma-USA*)
13. *Dimethylsulfoxide (DMSO)*

2.6.2 Alat Penelitian

Ekstraksi Kulit Manggis

1. Pisau *stainless steel*
2. Tampah
3. Toples kaca bertutup
4. Ayakan 80 mesh
5. Blender (Phillips, Indonesia)
6. Timbangan digital (Electronic Balance, BS 600 H, USA)
7. *Beaker glass* (Pyrex, Japan)
8. Spatula kaca
9. Spatula laboratorium *stainless steel*
10. Gelas ukur (Pyrex, Japan)
11. Corong kaca (Herma, Japan)
12. Gelas takaran (Kirapak, Indonesia)
13. Kertas saring (Whatman No. 40, UK)
14. Oven (Mettler GmbH + Co. KG, tipe 300, Germany)
15. *Rotary evaporator* (Heidolph, Laborota 4000, German)

Uji Sitotoksitas

1. *96-well tissue culture plate* (Nunc, USA)
2. *Elisa reader* (Thermo Scientific, USA)
3. *Automatic plate shaker* (Vari shaker, USA)
4. Inkubator (Mettler, Germany)
5. *Micropipette* (Eppendorf, Germany)

6. Botol kultur (Roux, Schott Duran, Germany)
7. *Microscope inverted* (Nikon, Jepang)
8. *Multi channel pipette* (ICN, Germany)
9. *Laminar flow hood* (Clemco, Australia)
10. *Sterile pipette tips* (Eppendorf, North America)
11. Tabung steril (Pyrex, USA)
12. Spuit (Sterra, Indonesia)
13. *Biosafety cabinet* (Clemco, Australia)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Sterilisasi Alat

Semua alat yang terbuat dari kaca dan logam, dicuci bersih kemudian disterilkan dengan dry heat oven selama 15 menit dengan suhu 121⁰ C sedangkan semua alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih, dikeringkan kemudian diulas alkohol 70%.

b. Uji Identifikasi Buah Manggis

Buah Manggis yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi buah manggis untuk mengetahui bahwa buah manggis yang digunakan berasal dari spesies *Garcinia Mangostana L.* Uji identifikasi ini dilakukan di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember (Lampiran A).

3.7.2 Pembuatan ekstrak kulit buah manggis 80% dan 100%

Ekstrak kulit buah manggis dibuat dengan menggunakan buah manggis yang memiliki kriteria sebagai berikut :

- a. Buah manggis yang digunakan adalah spesies *Garcinia mangostana L.*
- b. Buah manggis diperoleh dari Pasirian, Kabupaten Lumajang, Provinsi Jawa Timur
- c. Buah manggis yang telah masak.

- d. Warna kulit buah manggis dominan berwarna ungu kemerahan tanpa memperhitungkan ukuran diameter buah manggis.
- e. Kulit buah manggis yang digunakan adalah yang lunak (telah dipisahkan dari kulit luar yang bersifat keras).

Pembuatan ekstrak kulit manggis, dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan beberapa tahapan. Tahap awal adalah buah manggis sebanyak 5 kg dicuci dengan air mengalir sampai bersih, dibersihkan dari kotoran yang menempel, lalu dikupas. Pengupasan diaawali dari kulit buah terluar yang keras, lalu diambil kulit buah yang lunak. (Gambar 3.1)



(a)



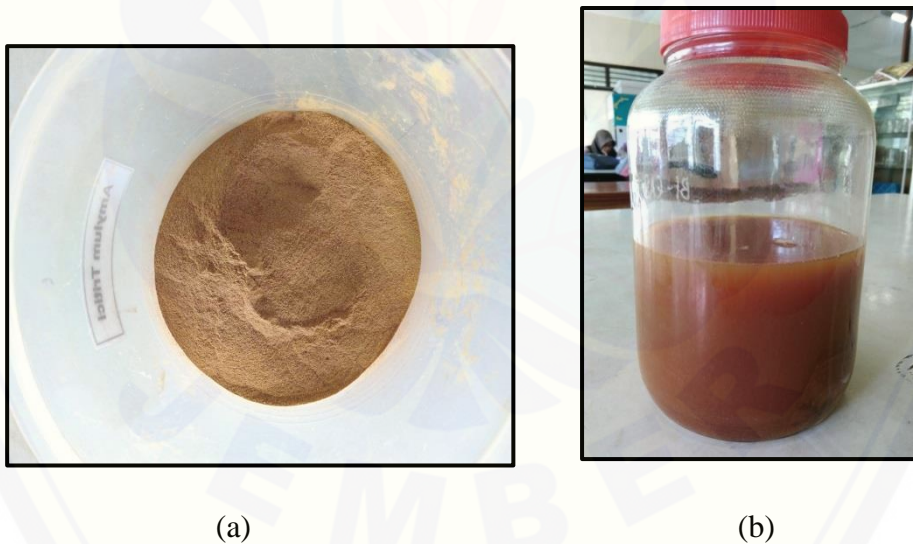
(b)



(c)

Gambar 3.1 (a) Buah Manggis yang sudah dibersihkan;
(b) Kulit buah manggis yang sudah dikupas;
(c) Kulit buah manggis yang lunak (sudah dipisahkan dari kulit terluarnya)

Selanjutnya kulit buah manggis yang lunak tadi dipotong kecil – kecil, lalu ditimbang berat basah nya dan diperoleh berat sebanyak 2,4 kg. Potongan kulit buah manggis kemudian ditiriskan pada tampah untuk menghilangkan sisa air. Selanjutnya kulit buah tersebut dikeringkan dalam oven dengan temperatur 50°C selama 2-3jam. Kulit yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan blender. Serbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 80 mesh sehingga menjadi serbuk simplisia halus. Hasil serbuk simplisia halus yang diperoleh sebanyak 400 gr (Gambar 3.2). Kemudian sediaan ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Serbuk simplisia halus sebanyak 200 gr dimasukkan ke dalam toples lalu direndam dengan etanol 96% sebanyak 1250 ml sesuai perbandingan 1:7,5 (b/v) antara banyaknya serbuk simplisia dengan pelarut. Perendaman dilakukan selama 3 hari di dalam wadah toples bertutup pada suhu ruangan dengan dilakukan pengadukan larutan 2-3 kali sehari (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 (a) Kulit buah manggis yang telah menjadi serbuk; (b) Rendaman simplisia halus kulit manggis dalam etanol 96%

Pengadukan bertujuan agar kulit manggis tidak mengendap dan tercampur merata. Setelah itu massa dipindahkan ke dalam corong kaca dan disaring dengan menggunakan kertas penyaring (Gambar 3.3). Hasil penyaringan yang diperoleh

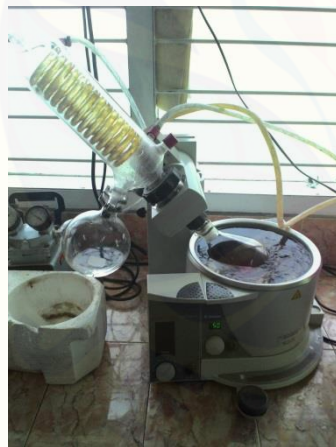
dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* dengan suhu 40°C selama 3 jam (Gambar 3.3). Kemudian dikeringkan di dalam oven selama lebih kurang 24 jam dengan suhu 50°C dan akhirnya diperoleh ekstrak kental kulit manggis yang telah siap digunakan (Dewi dkk., 2013). Hasil ekstrak kulit buah manggis disimpan di dalam lemari es suhu 0°C apabila tidak langsung digunakan.



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 3.3 (a) dan (b) Penyaringan hasil maserasi; (c) evaporasi dengan menggunakan rotary evaporator; (d) Hasil ekstrak kulit buah manggis konsentrasi 100%

Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak kulit manggis 80%, maka digunakan rumus pengenceran $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

Keterangan :

V1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak konsentrasi 100%)

V2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak yang akan dibuat)

M1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak 100%)

M2 : Konsentrasi kedua (konsentrasi larutan ekstrak yang akan dibuat)

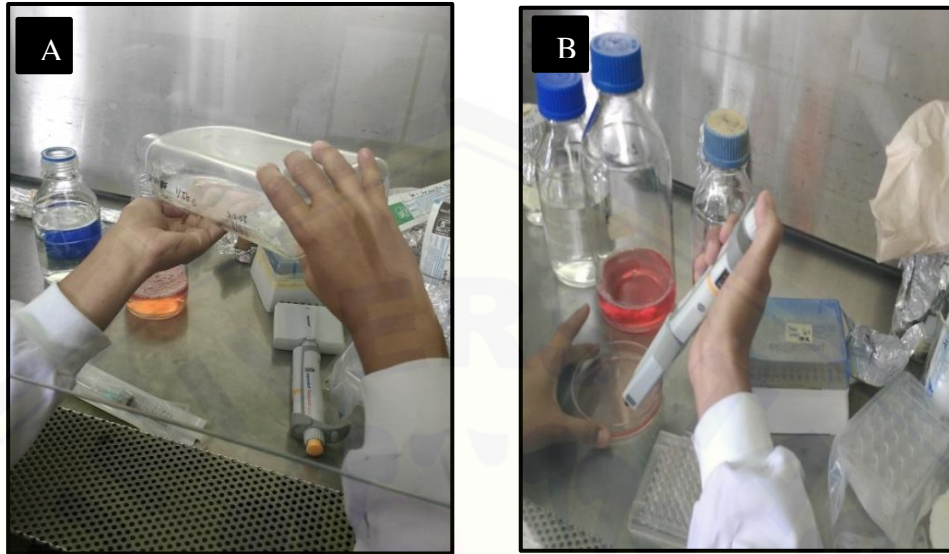
3.7.3 Uji Sitotoksitas

1. Tahap persiapan sel fibroblas BHK-21

Sel fibroblas diambil dari kultur sel BHK-21 dalam bentuk cell-line yang ditanam dalam botol Roux. Setelah penuh kultur dipanen dengan menggunakan larutan *Trypsine Versene*. Hasil panen ditanam dalam media Eagles yang mengandung 5% fetal bovine serum albumin diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Gambar 3.4). Sel kemudian dipindahkan ke dalam botol kecil (Roux) dengan kepadatan 2×10^5 sel/ml (Gambar 3.5a). Sel dikultur dalam setiap sumur *microplate 96 well* sampai konfluen (Gambar 3.5b). Setiap sumur berisi sel dan media Eagles dengan kepadatan 2×10^5 sel/ml sebanyak 100µl (Gambar 3.5c).



Gambar 3.4 Kultur *cell lines* BHK-21 dengan media *Eagles*



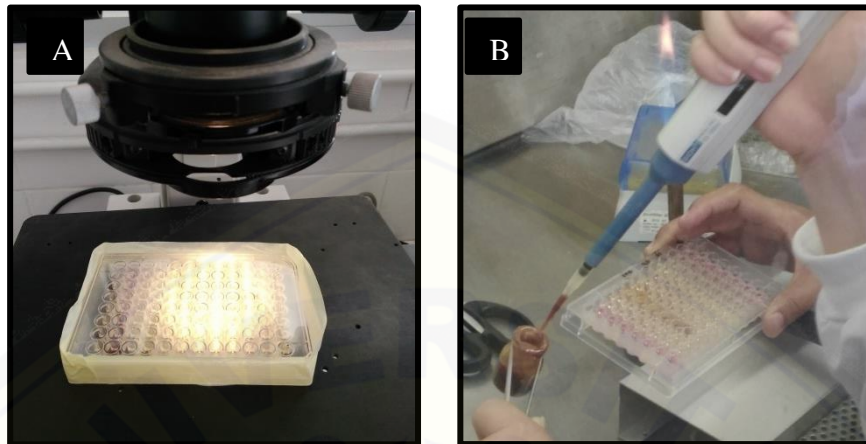
Gambar 3.5 Sel dipindahkan ke dalam botol kecil (Roux) dengan kepadatan 2×10^5 sel/ml (a) Sel fibroblas didistribusikan ke dalam *96-well microplate* (b)



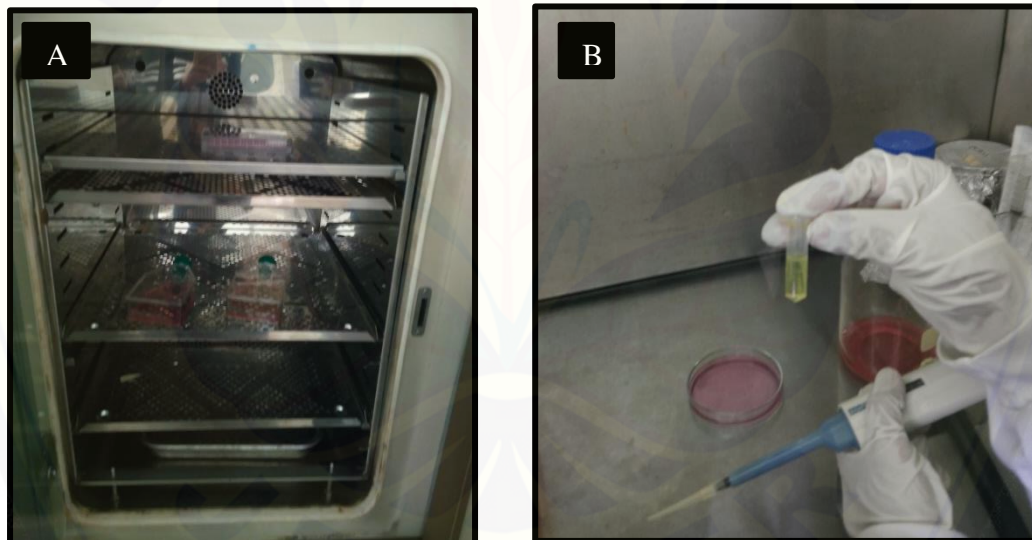
Gambar 3.5 sel fibroblas dalam *96-well microplate* (c)

2. Tahap Persiapan uji sitoksisitas

Mengamati *microplate* yang berisi sel fibroblas yang telah diinkubasi di bawah mikroskop cahaya, apakah sel fibroblas yang telah ditanam dalam setiap *well* telah cukup banyak untuk dilakukan perlakuan (Gambar 3.6a) Dipersiapkan *microplate* (96 *well*/sumuran). Sel dengan kepadatan 2×10^5 dalam 100 μl media kultur (Eagle, penstrep 1%, PBS 10%, fungizone 100 unit/ml), dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran. Sel fibroblas yang sudah didistribusikan ke dalam *microplate* 96 *well* dibagi dalam 8 kelompok perlakuan. Kelompok I sebagai kontrol negatif menggunakan kontrol media berisi media kultur saja yang dianggap persentase sel hidup 0% sebanyak 8 sumuran, kelompok II sebagai kontrol positif menggunakan kontrol sel yang berisi sel dalam media kultur dianggap persentase sel hidup 100% sebanyak 8 sumuran. Kelompok III ekstrak kulit manggis sebanyak 50 μl dengan konsentrasi 80% pada 8 sumuran, kelompok IV ekstrak kulit manggis konsentrasi 100% pada 8 sumuran. Kemudian kelompok V larutan H_2O_2 3% sebanyak 50 μl pada 8 sumuran dan kelompok VI larutan NaOCl 2,5% sebanyak 50 μl kedalam 8 sumuran (Gambar 3.6b). Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C (Gambar 3.7a). Keluarkan *microplate* (96 *well*/sumuran) dari inkubator. Ditambahkan 10 μl Garam Tetrazolium (MTT) dilarutkan dalam PBS 5mg/ml, diinkubasi kembali selama ± 3 jam pada suhu 37°C . (Gambar 3.7b). Kedalam suspensi sel ditambahkan larutan DMSO (*Dimethylsulfoxide*) sebanyak 50 μl tiap sumuran. Plate diaduk secara mekanis dengan Plate Shaker sampai kristal formazan terlarut, selama 5 menit (Gambar 3.8). Sel fibroblas yang hidup akan terwarnai dengan formazan menjadi biru sedang yang mati tidak terbentuk warna biru. Selanjutnya, formazan dibaca absorbansinya secara spektrofotometri dengan ELISA reader pada panjang gelombang 620 nm (Gambar 3.9).



Gambar 3.6 *microplate* diamati di bawah mikroskop (a) Bahan uji dimasukkan ke dalam well (b)



Gambar 3.7 Inkubasi dengan suhu 37°C (a) Tambahkan 10 μ l Garam Tetrazolium (MTT) dilarutkan dalam PBS 5mg/ml (b)



Gambar 3.8.1 Plate diaduk dengan Plate Shaker



Gambar 3.8.2 Pembacaan absorbansi dengan ELISA reader

Hitung rata-rata persentase kehidupan sel dari nilai Optical density (absorbansi) masing-masing sampel pada setiap konsentrasi terhadap nilai kontrol. Buat grafik persentase kehidupan sel terhadap kelompok perlakuan dan kontrol. Persentase kehidupan sel dihitung menggunakan rumus yang digunakan oleh Christian Khoswanto (UNAIR, 2008) sebagai berikut:

Rumus Umum:

$$\% \text{ Kehidupan sel} = \frac{\text{Grup tes} + \text{media}}{\text{Sel} + \text{media}} \times 100\%$$

Keterangan:

- **% kehidupan sel** : persentase jumlah kehidupan sel setelah uji
- **Grup Tes** : Nilai OD (Optical Density) formazan setiap sampel setelah tes
- **Media** : Nilai OD (Optical Density) formazan pada rata-rata setiap kontrol media
- **Sel** : Nilai OD (Optical Density) formazan pada rata-rata kontrol sel

Heravi *et al* (2013) mengelompokkan tingkat toksisitas suatu bahan menurut klasifikasi jumlah sel yang hidup yaitu:

- e. Sel yang hidup lebih dari 90% dapat diklasifikasikan sebagai non-toksik.
- f. Sel yang hidup diantara 60% hingga 90% dapat diklasifikasikan sebagai sedikit toksik.
- g. Sel yang hidup diantara 30% hingga 59% dapat diklasifikasikan sebagai cukup toksik.
- h. Sel yang hidup kurang dari 30% dapat diklasifikasikan sebagai sangat toksik.

3.8 Analisa Data

Data dari setiap pemeriksaan dianalisis secara statistik dengan tingkat kemaknaan ($\alpha = 0,05$), memakai uji statistik sebagai berikut :

- Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*.

- Jika pada kedua uji tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik, yaitu Uji analisa varians satu arah (ANOVA), untuk melihat pengaruh sitotoksitas terhadap sel fibroblas (*BHK-21*) antara kelompok perlakuan.
- Uji lanjut dengan LSD (*Least Square Differences*) untuk melihat perbedaan sitotoksitas terhadap pertumbuhan sel fibroblas (*BHK-21*) antar semua kelompok perlakuan.
- Uji ANOVA memiliki beberapa syarat, yaitu berdistribusi normal, dan variasi data harus homogen. Apabila data tidak memenuhi asumsi tersebut, yaitu terdistribusi normal dan atau tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

3.9 Alur pengujian uji sitotoksisitas

Siapkan sel fibroblas dalam media *Eagle* dan didistribusikan ke dalam sumuran (*well*) *microplate* dengan Kultur sel BHK-21 (2×10^5 sel/*well*) dalam 100 μ l media *Eagle*

↓
Tambahkan bahan uji (ekstrak kulit manggis 80% dan 100 %, NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%) ke dalam sumuran masing - masing konsentrasi uji sebanyak 50 μ l
Inkubasi dengan suhu 37⁰C suasana CO₂ 5% selama 24 jam

↓
Siapkan Reagen MTT, Garam tetrazolium (MTT) dilarutkan dalam *Phosphate-Buffered Saline* (PBS) 5 mg/ml

↓
MTT ditambahkan langsung pada *plate* yang berisi sel fibroblas dalam medium kultur 10 μ l

Diinkubasi + 4 jam pada suhu 37⁰C suasana CO₂ 5%

↓
Seluruh media dalam sumuran dan bahan uji diambil

↓
Ditambah DMSO 50 μ l

↓
Plate diaduk secara mekanis dengan *Plate Shaker* sampai kristal formazan terlarut

↓
Formazan dibaca absorbansinya secara spektrofotometri dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 620 nm

↓
Hitung rata-rata % kehidupan sel dari nilai *Optical density* masing-masing sampel/konsentrasi terhadap nilai kontrol

↓
Buat grafik persentase kehidupan sel terhadap kelompok perlakuan dan kontrol

Gambar 3.9 Alur penelitian

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kulit manggis konsentrasi 100% dengan nilai rerata persentase kehidupan sel 92,21% dikategorikan tidak toksik. Ekstrak kulit manggis 80% dengan persentase kehidupan sel sebesar 85,25% dikategorikan sebagai sedikit toksik, sedangkan NaOCl 2,5% dengan persentase kehidupan sel 23,47% dan H₂O₂ 3% dengan persentase kehidupan sel sebesar 21,7% dikategorikan sebagai sangat toksik
2. Ekstrak kulit buah manggis 100% memiliki toksisitas paling rendah dibanding ekstrak kulit buah manggis 80%, NaOCl 2,5% dan H₂O₂ 3%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memenuhi syarat dalam usaha pengembangan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L*) sebagai bahan irigasi saluran akar, meliputi uji biokompatibilitas lanjutan baik secara in vivo atau uji klinis untuk mengetahui efek biokompatibilitas ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana L*) secara lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, D. 2005. *Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi antara Hydrogen Peroksida 3% dan Infusum Daun Sirih 20% terhadap Bakteri Mix*. Surabaya: Universitas Airlangga
- Aubut Virginie, DDS, Ludovic Pommel, DDS, Bernard Verhille, MS, Thierry Orsière, PhD, Serge Garcia, PhD, Imad About, PhD, and Jean Camps, DDS, PhD. 2016. *Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution*. France. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010;109:p120-125
- Marseille and Neuilly sur Seine, Beltz, RE, Torabinejad M, Pouresmail M, 2003. *Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentine*. Journal of Endodontics.
- Barrientos Sthepan, Olivera Stojodinovic, Michael S Golinko, Harold Brem, Marjama Tonic. 2008. *Growth Factor and Cytokines In Wound Healing. Wound Repair and Regeneration: 586-602*.
- Bewiska, A. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Manggis (Garcinia mangostana) terhadap Pertumbuhan Pseudomonas Aeruginosa*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia
- Canderasari NM. 2004. *Perbedaan Sitotoksisitas larutan Tetrasiklin, hidroklorida 1% dengan natrium hipoklorit 2,5%*. Karya tulis Akhir program Pendidikan dokter gigi spesialis, Universitas Airlangga.
- Chirumbolo Salvatore. 2010. *The role of Quercetin, flavonols and Flavones in Modulating Inflammatory Cell Function*. Inflammation and Allergy-Drug Targets Bentham Science Publishers Ltd: 1-23.
- Choiroh, N. 2006. *Perbedaan Rebusan Daun Sirih dengan Sodium Hipoklorit sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar terhadap Streptococcus Viridans*. Skripsi. Jember: Lembaga Penelitian Universitas Jember
- Cornelia Melinda, dkk. 2015. *Conservative Dentistry Journal*. Vol. 5 No. 1 Januari - Juni 2015: 22-26

- Cornelissen LH. 2004. *Which molecules of the initial phase of wound healing maybe used as markers for early detection of skin damage*. Eindhoven University of Technology: 5-25.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. American Society for Microbiology, 12 (14): 564-582.
- Freshney, R. I. 2011. *Animal cell Culture, A practical approach* 6th edition. IRL. Press : Washington DC.
- Fu C, Loo A, Chia FP, & Huang D. Oligomeric proanthocyanidins from mangosteen pericarps, *J Agric Food Chem*. 2007; 55 (19): 7689–7694
- Grossman LI, Oliet S, Del Rio CED, 1995 *Ilmu Endodontik dalam Praktek*. Terjemahan Rafin A dari *Endodontic Practice* 11th ed. Philadelphia. Lea & Febiger. pp 196, 205
- Gupita, C. N., dan Rahayuni A. 2012. *Pengaruh Berbagai pH Sari Buah dan Suhu Pasteurisasi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Tingkat Penerimaan Sari Kulit Buah Manggis*. Semarang: Universitas Diponegoro
- Gutmann J.L., Regan J.D. 2010. *Preparation of the root canal system, Harty's endodontics in Clinical Practice*. London:Saunders
- Hasanudin, 1991. Pengaruh hydrogen peroksida dengan konsentrasi antara 1,5%-3% terhadap jaringan lunak dan bakteri plak. Tesis, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga
- Heravi, F., Ramezani, M., Poosti, M., Hosseini, M., Shajiei, A., dan Ahrari, F. In Vitro Cytotoxicity Assessment of an Orthodontic Composite Containing Titanium – dioxide Nano – particles. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 2013; 7(4), 192-198.
- Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-Levine Y, Steinberg D. Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. *J Endod* 2001; 27:278-80.

- Hendrijatini, Nike. 2009. *Biocompatibility of acrylic resin after being soaked in sodium hypochlorite*. Universitas Airlangga Surabaya. Dental Journal Vol. 42. No. 2 April–June 2009
- Hidalgo E, Bartolome R, Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. *Chem Biol Interact* 2002;139:265-82.
- Ingle, J. I., Bakland, L. K., Baumgartner. 2008. *Ingle Endodontics* 6th ed. London: BC Decker Inc
- Johnson WT, Noblett WC. Cleaning and shaping. In: Walton RE, Torabinejad M. *Endodontics principles and practice*. 4th ed. India: Thomson Press, 2009: 263.
- Jung, Su, Keller, Mehta, & Kinghorn. 2006. Antioxidant Xanthones from the Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J. Agric Food Chem*. Vol. 54: 2077-82
- Junedy, S. 2005. Isolasi dan Uji Sitotoksitas Senyawa Alkaloid dari Spon Koleksi no MD-02 Cyang. Skripsi. Fakultas Farmasi: Universitas Gadjah Mada.
- Kaomongkolgit, Ruchadaporn. 2012. Alpha-mangostin suppresses MMP-2 and MMP-9 expression in head and neck squamous carcinoma cells. Phitsanulok. Naresuan University Thailand
- Khomsan, A. 2006. *Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas Media Nusantara
- Kumar, Abbas, Fausto. 2005. *Robbins and Cotran Pathologic basis of Disease*, 7th ed, Elsevier Saunders, p 16-18
- Leeson Thomas S, Leeson C. Roland, Paparo Anthony A ; 1996, Buku Ajar Histologi, edisi ke 5, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Longo. 2010. Cytotoxicity and Genotoxicity of Endodontic Irrigants on Human Cells. *Clin Pesq Odontol* 6(2): 134-40.
- Meizarini, Asti. 2005. Sitotoksitas bahan restorasi cyanoacrylate pada variasi perbandingan powder dan liquid menggunakan MTT assay. *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.)*, Vol. 38. No. 1 Januari 2005: 20–24

- Mehdipour O., Kleier D.J., & Averbach R.E. 2007. Anatomy of Sodium hypochlorite accidents. *Compend Contin Educ Dent*. Vol. 28(10): 544-6
- Mehra P, Clancy C, Wu J. Formation of a facial hematoma during endodontic therapy. *JADA* 2000; 131:67-72.
- Metzger Z, Basrani BR, Goodies H. 2011. Instruments, materials and devices. Cohen's Pathways of the Pulp Chapter 8. 10th ed. Cohen S, Hargreaves K. Cohen's pathways of the pulp: Mosby Elsevier, St. Louis
- Moongkarndi P, Kosem N, Kaslungka S, Luanratana O, Pongpan N, Neungton N., 2004, Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line, *J Ethnopharmacol.*, 90(1):161-166.
- Nasution, Syahnita Sari Nugraha. 2006. Mixture of Tetracyclin Isomer and Acid Detergent (MTAD) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar. Medan:USU e-repository.
- Neviyanti. 2004. Biokompatibilitas irigasi saluran akar. Medan. E-journal USU
- Nevi Y. 2009. Perbedaan biokompatibilitas saponin dari buah sapindus rarak DC dengan larutan NaOCl 5% sebagai bahan irigasi saluran akar. Proceedings RDM&E-III FKG-USU. Medan. Abstrak.
- Niwa, Y. 1997. Radikal Bebas Mengundang Maut. Tokyo: NTU. Hal 30-40,76-77
- Nizar M. 2003. Daya Antibakteri perasan buah nanas muda (*Ananas comosus*) terhadap *streptococcus viridans*. Skripsi, program sarjana kedokteran gigi Universitas jember
- Nove H, Adiastruti E & Mintarsih D. 2013. *Cytotoxicity of Garcinia mangostana Linn pericarp extract toward human gingival fibroblast cell*. *Oral Medicine Dental Journal*, 4(1): 10-16.
- Nugroho, A. N. 2007. *Manggis (Garcinia Mangostana L.): Dari Kulit Buah Yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat*. *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 12(42): 1-9

- Obolskiy, Pischel, Siriwatanametanon, & Heinrich. 2009. *Garcinia Mangostana L.: A Phytochemical and Pharmacological Review*. *Phytother Res*. Vol. 23(8): 1047-65
- Ong, H. C. 2004. *Buah: Khasiat Makanan & Ubatan*. Malaysia: Yeohrpenco Sdn. Bhd
- Orstavik, D., Haapsalo, M.: Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodont. Dent. Tramadol*. 6: 142, 1990
- Pasaribu, F., P. Sitorus dan S. Bahri. 2012. Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Journal of Pharmaceutics dan Pharmacologi* (1) : 1-8
- Pedraza Jose C, Noemi Cardenas-Rodriguez, Marisol Orozco-Ibarra, Jazmin M, Perez-Rojas. 2008. Medical Properties of mangosteen (*Garcinia Mangostana*). *Elsaiver Food and Chemical Toxicology*. Vol 46. Pp 3228-3239.
- Poeloengan Masniari & Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn*). *Media Litbang Kesehatan Vol 20* (2). Pp 65-69
- Ramadhani, Putri. 2013. Uji Biokompatibilitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Dan NaOCl 2,5% Pada Sel fibroblas bhk-21. Skripsi. Surabaya. Universitas Airlangga
- Risya, Dini Marsa. 2010. Efek antibakteri ekstrak lerak dalam pelarut etanol terhadap *Enterococcus faecalis*. Skripsi. Medan: FKG USU
- Sahroni. 2012. *Apa Kata Dokter tentang Khasiat Jus Kulit Manggis*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Sakagami Hiroshi, Tatsuya Kushida, Toru Makino, Tsutomu Hatano, Yoshiaki Shirataki, Tomohiko Matsuta, Yukiko Matsuo, Yoshihiro Mimaki. 2012. *Functional Analysis of Natural Polyphenols and Saponin as Alternative Medicines*. <<http://www.intechopen.com>>.

- Siregar, S. N. 2011. *Sitotoksitas Ekstrak Lerak (Sapindus Rarak Dc) Terhadap Sel Fibroblas Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Secara In Vitro*. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Siregar F dan Hadijono BS . 2000. Uji Sitotoksitas dengan Esei MTT. *Jurnal Kedokteran Gigi UI*. Vol : 7. Hlm : 28-32.
- Steel, R. G. D. & Torrie, H. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi Kedua. Bambang Sumantri (penerjemah). "Principles and Prosedurs of Statistics". Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Suksamrarn, Suwannapoch, Phakhodee, Thanuhiranlert, Ratananukul, Chimnoi, & Apichart. 2003. Antimycobacterial Activity of Prenylated Xanthones From The Fruits of *Garcinia Mangostana*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. Vol. 51(7): 857-859
- Sugiarto, A., dan Putera, T. D. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka
- Sunarjono, H. 2008. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Supiyanti W., Endang D.W., dan Lia K. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 15(2): 64-70
- Supranto, J. 2000. *Statistik Teori dan Aplikasi*, edisi ke-6. Jakarta: Erlangga.
- Soekidjo. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta
- Tarigan, R. 2004. *Perawatan Pulpa Gigi (Endodonti)*. Ed. Ke-2. Jakarta: EGC. 128-129
- Torabinejad M, Khademi A.A, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J Shabahang S.A. *A new solution for the removal of the smear layer*. *J Endodon* 2003; 29(3):170-5
- Uswatun, Cindy. 2015. Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Manggis terhadap kebersihan smear layer pada dinding saluran akar. Jember: Universitas Jember
- Vermani, K., Garg S,. 2002. *Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS*. *J Ethnopharmacol*. 2002 Apr;80(1):49-66.

- Walter LD. Oral histology: cell structure and function. 1986 : 145-147. Kitamura H, Oda M, AH John. Colour atlas of human oral histology. U.S.A: 1999 -106.
- Walton R. E., dan Torabinejad M. 2008. *Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsi*. Ed. ke-3. Jakarta: EGC
- Weecharangsan W, Opanasopit P, Sukma M, Ngawhirunpat T, Sotanaphun U, Siripong P., 2006, *Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (Garcinia mangostana Linn.)*, Med Princ Pract.,15(4):281-287.
- Windriana, Idayu. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Jember: Universitas Jember
- Wulandari, E. 2006. Efektivitas ekstrak asam jawa dan hidrogen peroksida sebagai bahan irigasi terhadap toksisitas fibroblas dan pembersih lapisan smear dinding saluran akar gigi. (Tesis) Surabaya: Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Yanti, N. 2004. *Biokompatibilitas Larutan Irigasi Saluran Akar*. <http://library.usu.ac.id/download/fkg/fkg-nevi2.pdf> [23 Maret 2013]
- Yusof, S. 2009. *Sodium Hypochlorite Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar*. Medan: Universitas Sumatera Utara

LAMPIRAN

A. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel untuk setiap kelompok perlakuan dipilih secara random dan perhitungan besar sampel memakai rumus (Steel dan Torrie, 1995):

$$n = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 \sigma \rho^2}{\delta^2}$$

Keterangan :

n : Besar sampel minimal

z_{α} : Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas atas kemaknaan (1,96)

z_{β} : Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas bawah kemaknaan (0,85)

$\sigma \rho^2$: Diasumsikan $\sigma \rho^2 = \delta^2$

Perhitungan :

$$n = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 \sigma \rho^2}{\delta^2}$$

$$n = \frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma \rho^2}{\delta^2} = (1,96 + 0,85)^2 = 7,8961$$

Dari hasil penghitungan menggunakan rumus diatas diperoleh jumlah minimal sampel untuk tiap kelompok perlakuan sebesar delapan.

B. Rumus Pengenceran

Rumus persamaan yang digunakan untuk pengenceran ekstrak kulit buah naga merah adalah :

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

Keterangan :

V_1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak konsentrasi 100%)

V2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak yang akan dibuat)

M1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak 100%)

M2 : Konsentrasi kedua (konsentrasi larutan ekstrak yang akan dibuat)

V1 = Volume larutan 100% ; M1 = 100%

V2 = Volume larutan yang ingin dibuat dalam hal ini konsentrasi 80% sebanyak 100 ml ; M2 = 80%

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100 = 100 \times 80$$

$$V1 = 80 \text{ ml}$$

Sehingga dibutuhkan 20 ml pengencer (aquadest) ditambah 80 ml ekstrak kulit manggis untuk mendapatkan 100 ml ekstrak kulit manggis konsentrasi 80%

C. Nilai absorbansi (*Optical Density*) hasil pembacaan *Elisa Reader*

Nomor	Kontrol Media	Kontrol Sel	Ekstrak Kulit Manggis 100%	Ekstrak Kulit Manggis 80%	H ₂ O ₂ 3%	NaOCl 2,5%
1	0,077	0,960	0,886	0,696	0,156	0,159
2	0,078	0,961	0,931	0,833	0,152	0,165
3	0,07	1,074	0,816	0,874	0,143	0,166
4	0,093	1,057	0,847	0,756	0,155	0,174
5	0,073	0,944	0,853	0,742	0,149	0,174
6	0,081	0,942	0,955	0,854	0,147	0,162
7	0,069	0,832	0,864	0,899	0,142	0,160
8	0,077	0,895	0,868	0,788	0,134	0,162
RATA RATA	0,077	0,958125				

D. Nilai perhitungan persentase kehidupan sel

Nomor	Ekstrak Kulit Manggis 100%	Ekstrak Kulit Manggis 80%	H₂O₂ 3%	NaOCl 2,5%
1	93,1%	74,7%	22,6%	22,8%
2	97,4%	87,9%	22,2%	23,4%
3	86,3%	91,9%	21,3%	23,5%
4	89,2%	80,5%	22,5%	24,3%
5	89,9%	79,1%	21,8%	24,3%
6	99,7%	90,0%	21,7%	23,1%
7	90,9%	94,3%	21,2%	22,9%
8	91,3%	83,6%	20,4%	23,1%
RATA RATA	92,21%	85,25%	21,69%	23,41%

E. Surat keterangan

E.1 Surat Hasil Identifikasi Buah Manggis



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. 04 /2015

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

Nama : Hayyu Safira
 NIP/NIM/NIK : 121610101014
 Institusi asal : Fakultas Kedokteran Gigi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Garcinia mangostana* L. (Backer I-387) ; Family – Cluciaceae ; Vernacular name – Manggis (Jawa, Sunda, Madura.).

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jember, 16 Nopember 2015



Drs. Siswanto, MSi
 NIP 196012161993021001

Ketua Laboratorium Botani,

Dra. Dwi Setyati, MSi
 NIP 196404171991032001

Determined by Dra. Hari Sulistiyowati, MSc., P.hD

E.2 Surat Ijin Penelitian



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

Nomor : 3895/UN25.8/TL/2015
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Kepala Pusat Veteriner Farma Surabaya
di
Surabaya

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Hayyu Safira F
2. NIM : 121610101014
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Perum. Surya Melenia B2/22 Jember
6. Judul Penelitian : Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Terhadap Kultur Sel Liner Fibroblas BHK-21
7. Lokasi Penelitian : Pusat Veteriner Farma (PUSVETFARMA) Surabaya

E.3 Surat keterangan pembuatan ekstrak



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS FARMASI

Jl. Kalimantan I/2 Kampus Tegal Boto. Telp./ Fax. (0331) 324736 Jember 68121.

SURAT KETERANGAN PEMBUATAN EKSTRAK

Data Pemohon :

Nama : Hayyu Safira Fuadillah
NIM : 121610101014
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember

Bahan : Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*)
Metode ekstraksi : Maserasi
Prosedur : Serbuk simplisia Kulit Manggis sebanyak 200 gram dimaserasi dengan etanol 96 % sebanyak 7,5 kali berat serbuk selama tiga hari. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator*.
Hasil : Ekstrak etanol Kulit Manggis dengan rendemen 29,5 % (b/b)
Tanggal Pembuatan : 11 Desember 2015

Jember, 25 Januari 2016

Ketua Bagian Biologi Farmasi

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198107232006042002

F. Analisis Data

F.1 Hasil uji normalitas menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov*

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	Sig.
Kehidupan_sel	ekm 100%	,208	8	,200 [*]
	ekm 80%	,150	8	,200 [*]
	H202 3%	,121	8	,200 [*]
	NaOCl 2,5%	,210	8	,200 [*]

F.2 Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances

Kehidupan_sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
13,237	3	28	,000

F.3 Hasil uji Beda Non-Parametrik Menggunakan Uji *Kruskal-Wallis*

Test Statistics^{a,b}

	Kehidupan_sel
Chi-Square	27,013
df	3
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

F.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan Menggunakan Uji Mann-Whitney

F.4.1 EKM (ekstrak kulit manggis) konsentrasi 100% dan EKM konsentrasi 80%

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kehidupan_sel	ekm 100%	8	10,63	85,00
	ekm 80%	8	6,38	51,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Kehidupan_sel
Mann-Whitney U	15,000
Wilcoxon W	51,000
Z	-1,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,074
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,083 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

F.4.2 EKM konsentrasi 100% dan H₂O₂ 3%

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kehidupan_sel	ekm 100%	8	12,50	100,00
	H2O2 3%	8	4,50	36,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Kehidupan_sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

F.4.3 EKM konsentrasi 100% dan NaOCl 2,5 %

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kehidupan_se l	ekm 100%	8	12,50	100,00
	NaOCl 2,5%	8	4,50	36,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Kehidupan_s el
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

F.4.4 EKM konsentrasi 80% dan H₂O₂ 3%Tabel 1.6 Perbedaan kehidupan sel antara ekm 80% dan H₂O₂ 3%

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kehidupan_sel	ekm 80%	8	12,50	100,00
	H ₂ O ₂ 3%	8	4,50	36,00
	Total	16		

Test Statistics ^a	
	Kehidupan_sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

F.4.5 EKM konsentrasi 80% dan NaOCl 2,5%

Tabel 1.7 Perbedaan kehidupan sel antara ekm 80% dan NaOCl 2,5%

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kehidupan_sel	ekm 80%	8	12,50	100,00
	NaOCl 2,5%	8	4,50	36,00
	Total	16		

Test Statistics ^a	
	Kehidupan_sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

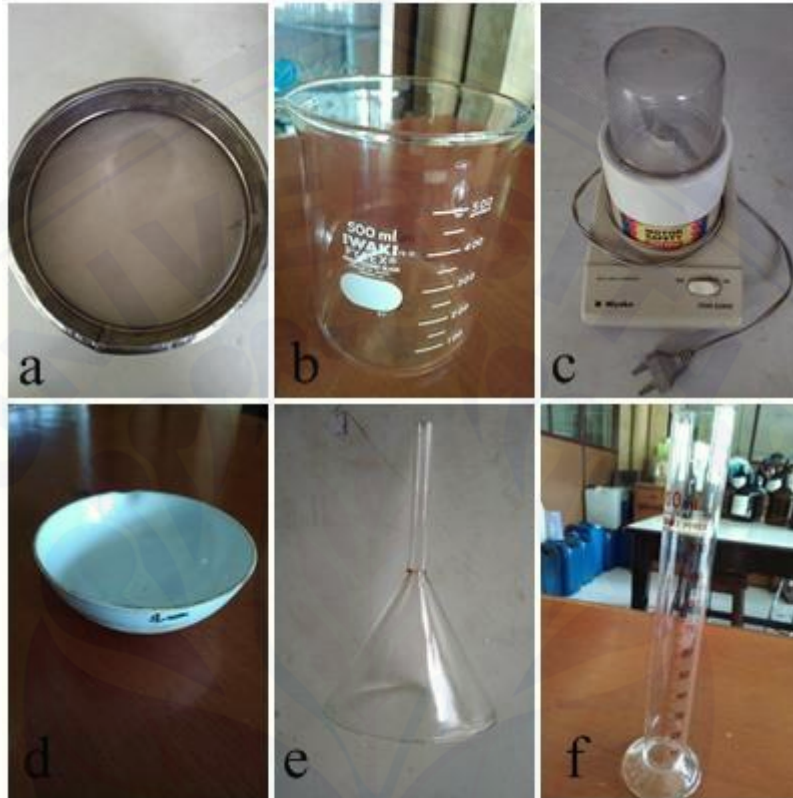
F.4.6 H₂O₂ 3% dan NaOCl 2,5%Tabel 1.8 Perbedaan kehidupan sel antara H₂O₂ 3% dan NaOCl 2,5%

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kehidupan_sel	H ₂ O ₂ 3%	8	4,50	36,00
	NaOCl 2,5%	8	12,50	100,00
Total		16		

Test Statistics ^a	
	Kehidupan_sel
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

G. Alat dan Bahan Penelitian**G.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstraksi Kulit Buah Manggis**

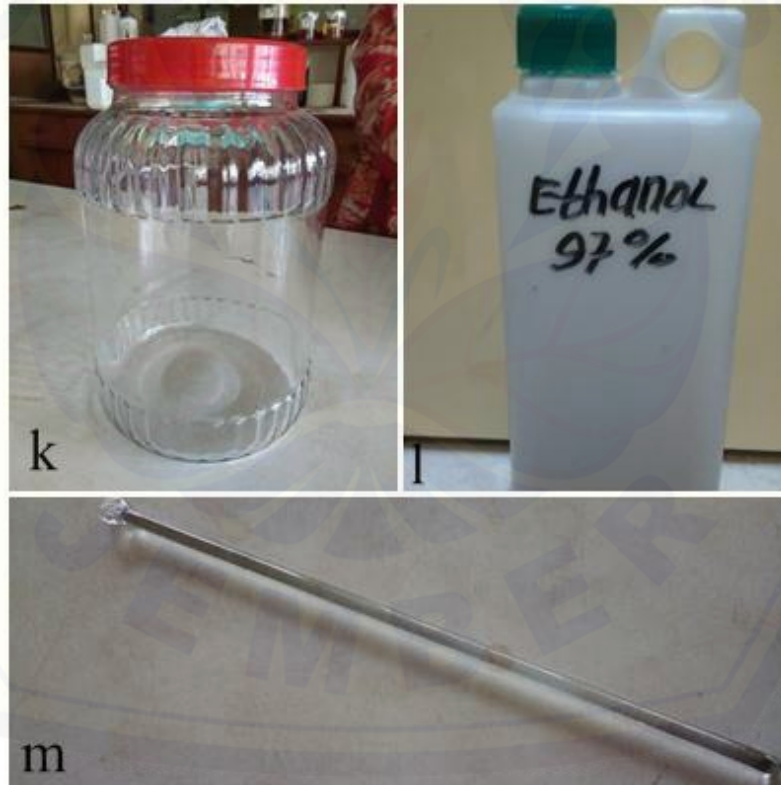
a. Ayakan; b. Beaker glass; c. Blender; d. Cawan;
e. Corong; f. Gelas ukur



g. neraca analitik; h. loyang



i. Kertas saring; j. Rotary evaporator



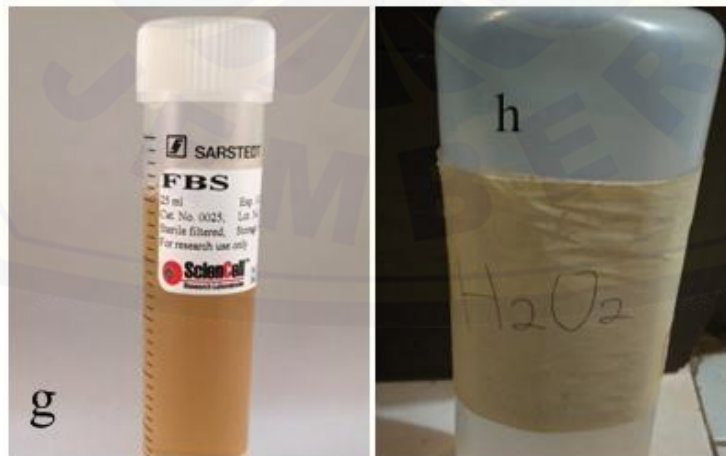
k. toples kaca; l. Ethanol 97%; m. spatula

G.2 Alat dan Bahan Uji Sitotoksitas

G.2.1 Bahan uji sitotoksitas

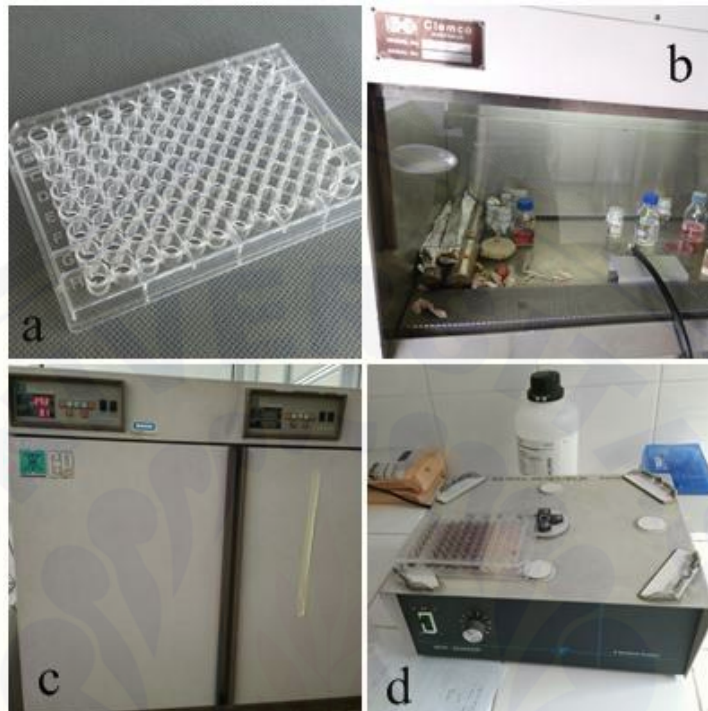


a. PBS; b. Media Eagles; c. Ekstrak Kulit manggis 100%; d. DMSO; e. Aquabidest; f. NaOCl 2,5%

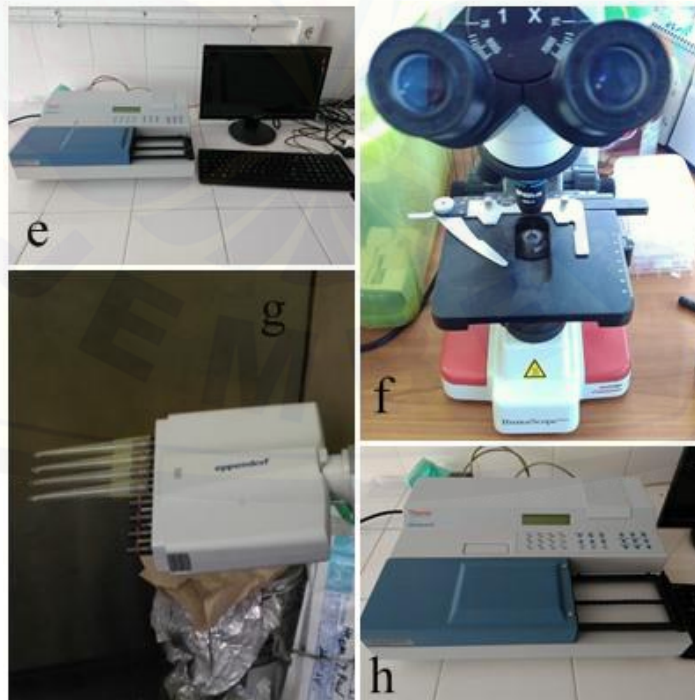


g. FBS; h. H₂O₂ 3%

G.2.2 Alat Uji toksisitas



a. Microplate 96-well; b. Biosafety cabinet; c. Inkubator; d. Plate shaker



e,h. Elisa reader; f. Mikroskop; g. Pipet eppendorf