



**ANALISIS PEMBENTUKAN *ODONTOBLAST-LIKE CELL* PADA PULPA
SETELAH PEMBERIAN *BIOACTIVE GLASS NANO SILICA* DARI ABU
AMPAS TEBU**

SKRIPSI

Oleh

Darmawan Dwi Wijayanto

NIM 141610101082

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2018



**ANALISIS PEMBENTUKAN *ODONTOBLAST-LIKE CELL* PADA PULPA
SETELAH PEMBERIAN *BIOACTIVE GLASS NANO SILICA* DARI ABU
AMPAS TEBU**

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

Darmawan Dwi Wijayanto

NIM 141610101082

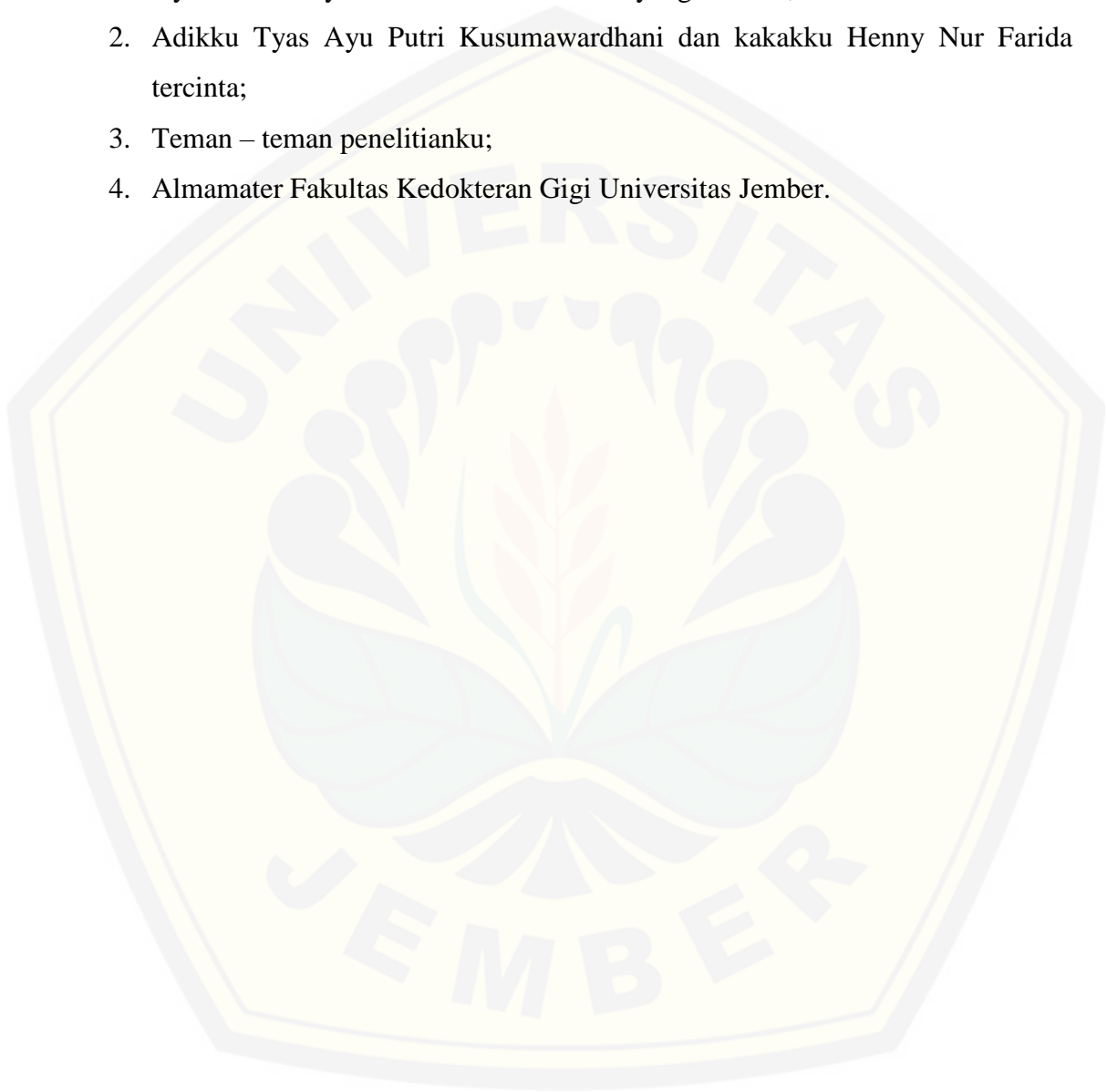
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Suliyono dan ibunda Susmiati yang tercinta;
2. Adikku Tyas Ayu Putri Kusumawardhani dan kakakku Henny Nur Farida tercinta;
3. Teman – teman penelitianku;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

Barang siapa yang menempuh suatu jalan untuk menuntut ilmu, Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga (HR Muslim)**



*Sumber: Al – Hadist

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Darmawan Dwi Wijayanto

NIM : 141610101082

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Pembentukan *Odontoblast-like Cell* Pada Pulpa Setelah Pemberian *Bioactive Glass Nano Silica* Dari Abu Ampas Tebu” 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, 29 Januari 2018

Yang menyatakan,

Darmawan Dwi Wijayanto
NIM 141610101082

SKRIPSI

ANALISIS PEMBENTUKAN ODONTOBLAST-LIKE CELL PADA PULPA
SETELAH PEMBERIAN *BIOACTIVE GLASS NANO SILICA* DARI ABU
AMPAS TEBU

Oleh

Darmawan Dwi Wijayanto

NIM 141610101082

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Izzata Barid, M.Kes

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Analisis Pembentukan *Odontoblast-like Cell* Pada Pulpa Setelah Pemberian *Bioactive Glass Nano Silica* Dari Abu Ampas Tebu” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : Selasa, 29 Januari 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc

NIP 198204242008012022

Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes

NIP 196510131994032001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Izzata Barid, M.Kes

NIP 196805171997022001

drg. Sri Lestari, M.Kes

NIP 196608191996012001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

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

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Analisis Pembentukan Odontoblast-like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nano Silica Dari Abu Ampas Tebu; Darmawan Dwi Wijayanto. 141610101082; 2018; 64 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pulpa yang terkena jejas akan mengadakan reaksi pertahanan berupa respon inflamasi, sintesa kolagen, dan pembentukan dentin reparatif. Respon awal dari pembentukan dentin reparatif yaitu terbentuknya *odontoblast-like cell*. *Odontoblast-like cell* merupakan sel yang dapat membentuk dentin karena respon terhadap karies, trauma, ataupun prosedur restorasi. Dentin yang terbentuk melalui *odontoblast-like cell* pada umumnya tidak teratur jika dibandingkan dengan dentin primer dan dentin sekunder (Walton, 2008). Bahan yang biasanya dijadikan perangsang pembentukan *odontoblast-like cell* adalah kalsium hidroksida (CaOH₂) dan *mineral trioxide aggregate* (MTA), tetapi masih memiliki beberapa kekurangan (Gong dkk., 2014).

Bahan lain yang bisa merangsang terbentuknya *odontoblast-like cell* adalah *bioactive glass nano silica* (Wang dkk., 2014). Meskipun memiliki banyak sekali manfaat, namun untuk mendapatkannya masih sangat sulit dan juga harganya yang relatif mahal. Kandungan terbesar dari komposisi penyusun *bioactive glass nano silica* adalah silika. Silika banyak terkandung pada abu ampas tebu, tetapi masih belum banyak dimanfaatkan. Kandungan yang paling besar dari mineral – mineral tersebut adalah silika sebesar 55,5% (Kristianingrum dkk., 2011) Besarnya kandungan ini berpotensi untuk dijadikan bahan baku pembuatan *bioactive glass nano silica* (Yusuf, 2014). Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pembentukan *odontoblast-like cell* pada pulpa setelah pemberian *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post-test control group design*. Sampel berupa tikus wistar jantan, gigi M1 rahang atas dipreparasi kemudian diperforasi dengan seujung sonde. Kemudian diaplikasikan bahan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan.

Terdapat 4 kelompok penelitian, yaitu : sampel yang dipapar *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu selama 14 hari (BAG14), sampel yang dipapar *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu selama 28 hari (BAG28), sampel yang hanya ditumpat sementara menggunakan caviton selama 14 hari (C14), sampel yang hanya ditumpat sementara menggunakan caviton selama 28 hari (C28). Kemudian tikus didekapitasi sesuai hari yang telah ditentukan. Selanjutnya gigi dibuat menjadi sediaan preparat dengan pengecatan hematoxylin dan eosin. Analisis pembentukan *odontoblast-like cell* dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 400 x. Jumlah *odontoblast-like cell* dilakukan perhitungan secara manual oleh 3 orang pada 3 lapang pandangan yang berbeda menggunakan aplikasi Image J.

Hasil menunjukkan jumlah *odontoblast-like cell* lebih tinggi pada kelompok yang dipapar *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu daripada yang tidak dipapar. Terdapat perbedaan yang signifikan peningkatan *odontoblast-like cell* antar kelompok. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu dapat meningkatkan pembentukan *odontoblast-like cell*.

PRAKATA

Alhamdulillah. Puji syukur saya panjatkan keharidat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Pembentukan *Odontoblast-like Cell* Pada Pulpa Setelah Pemberian *Bioactive Glass Nano Silica* Dari Abu Ampas Tebu”. 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. drg. Izzata Barid, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Sri Lestari, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping, terima kasih atas waktu yang diluahkan untuk membimbing penulis dan setiap ide yang diberikan kepada penulis;
2. drg. Nadie Fatimatuazzahro MD.Sc selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluahkan waktunya untuk menguji serta memberikan masukan saran dan kritik yang membangun kepada penulis;
3. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah mendidik penulis dan memberikan bekal ilmu selama penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Keluarga penulis yang tidak ada hentinya memberikan semangat, dukungan serta motivasi;
5. Sahabat seperjuangan di kelompok *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu, Yuniko Dimas Ardi Ansyah, Nanik Rahmawati, Rusella Try Setyawati, Umil Syifa Kuluba, Lady Ayu Budiartie, Meirsa Sawitri Hayusari, Erfika Arifanti yang selalu berjuang Bersama;
6. Seluruh staf Laboratorium Biosain Politeknik Negeri Jember, terutama Mas Taufan selaku teknisi pendamping kelompok penulis;

7. Seluruh teman FKG 2014, terima kasih atas kekompakannya selama ini;
8. 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, 29 Januari 2018

Penulis

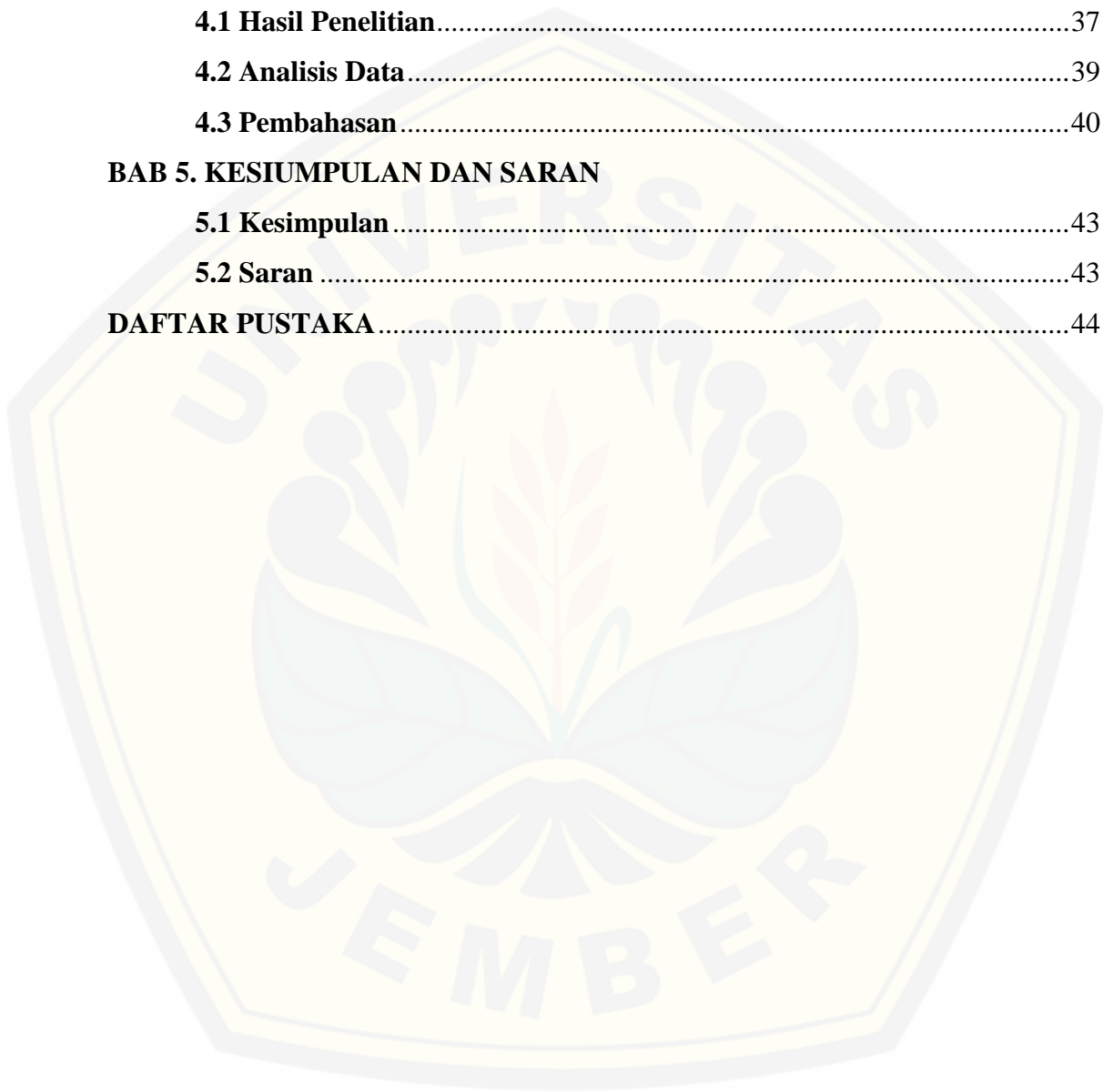


DAFTAR ISI

	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
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Dentin	5
2.1.1 Macam Dentin	5
2.2 Pulpa	5
2.2.1 Anatomi Pulpa	5
2.2.2 Fungsi Pulpa	6
2.3 Odontoblast Like Cell	6
2.4 Bioactive Glass	7
2.4.1 Pengertian Bioactive Glass	7
2.4.2 Kandungan Bioactive Glass	7
2.4.3 Kegunaan Bioactive Glass	8
2.4.4 Bioactive Sol-Gel Glass	8
2.4.5 Bioactive Glass Silika	9
2.5 Silika	9

2.6 Tebu	10
2.6.1 Asal dan Penyebaran Tanaman Tebu	10
2.6.2 Klasifikasi Tanaman Tebu	11
2.6.3 Morfologi Tanaman Tebu	11
2.7 Peta Konsep	13
2.8 Hipotesis Penelitian	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	15
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.3 Variabel Penelitian	15
3.3.1 Variabel Bebas	15
3.3.2 Variabel Terikat	16
3.3.3 Variabel Terkendali.....	16
3.4 Definisi Operasional	16
3.4.1 Abu Ampas Tebu	16
3.4.2 <i>Bioactive Glass Nano Silica</i> dari Abu Ampas Tebu.....	16
3.4.3 <i>Odontoblast Like Cell</i>	17
3.5 Sampel Penelitian	17
3.5.1 Populasi Sampel.....	17
3.5.2 Kriteria Sampel	17
3.5.3 Pengelompokan Sampel	17
3.5.4 Besar Sampel	18
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.6.1 Alat Penelitian.....	19
3.6.2 Bahan Penelitian	20
3.7 Prosedur Penelitian	21
3.7.1 Tahap Persiapan	21
3.7.2 Tahap Adaptasi	26
3.7.3 Tahap Perlakuan	26
3.7.4 Pembuatan Sediaan Preparat Histologi.....	29
3.7.5 Pewarnaan Preparat Histologi.....	31

3.7.6 Pengamatan Sediaan Preparat Histologi	34
3.8 Analisis Data	35
3.9 Alur Penelitian	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian.....	37
4.2 Analisis Data.....	39
4.3 Pembahasan.....	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44



DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rerata <i>odontoblast-like cell</i> pada setiap kelompok.....	37
4.2 Ringkasan hasil uji <i>post hoc LSD</i>	40



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Odontoblast like cell</i>	7
Gambar 2.2 Tanaman tebu	12
Gambar 2.3 Peta konsep	13
Gambar 3.1 Proses pembakaran ampas tebu dengan api.....	21
Gambar 3.2 Proses pengeringan ampas tebu dengan <i>furnace</i>	22
Gambar 3.3 Pengayakan abu ampas tebu	22
Gambar 3.4 Pengadukan abu ampas tebu dengan larutan HCl	22
Gambar 3.5 Penyaringan campuran abu ampas tebu dengan larutan HCl menggunakan kertas saring.....	23
Gambar 3.6 Pengeringan menggunakan oven	23
Gambar 3.7 Penimbangan abu ampas tebu dan pengadukan campuran abu ampas tebu dengan NaOH.....	24
Gambar 3.8 Natrium silikat kering.....	24
Gambar 3.9 Hasil campuran abu ampas tebu yang siap dikeringkan dalam oven.....	25
Gambar 3.10 Adaptasi tikus	26
Gambar 3.11 Anestesi tikus dengan difiksasi	26
Gambar 3.12 Tikus yang teranestesi diposisikan terlentang	27
Gambar 3.13 Preparasi gigi molar satu rahang atas	27
Gambar 3.14 Sketsa potongan mesial – distal.....	28
Gambar 3.15 Pembiusan tikus dengan kloroform (gambar A) dan dislokasi servikal (gambar B).....	29
Gambar 3.16 Pengambilan jaringan dengan memotong rahang atas	29
Gambar 3.17 Jaringan difiksasi menggunakan larutan buffer formalin 10% ..	30
Gambar 3.18 Tahap <i>embedding</i>	31
Gambar 3.19 Penyayatan menggunakan mikrotom	31
Gambar 3.20 Tahap deparafinisasi menggunakan <i>xylol</i>	32

Gambar 3.21 Rehidrasi menggunakan alkohol	32
Gambar 3.22 Pembilasan preparat menggunakan air mengalir.....	32
Gambar 3.23 Dehidrasi dengan alkohol	33
Gambar 3.24 Bahan <i>xylol</i> untuk merendam preparat	33
Gambar 3.25 Tahap <i>mounting</i> dengan cairan <i>entellan</i> (gambar A), Preparat yang sudah jadi (gambar B)	33
Gambar 3.26 Preparat dengan perbesaran 100x	34
Gambar 3.27 Lapang pandang 1 (gambar A), lapang pandang 2 (gambar B), lapang pandang 3 (gambar C)	34
Gambar 3.28 Bagan alur penelitian	36
Gambar 4.1 Gambaran histologis <i>odontoblast-like cell</i> pada perbesaran 400x dengan pewarnaan H.E	38
Gambar 4.2 Histogram rata – rata jumlah <i>odontoblast-like cell</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Analisis Data.....	48
A.1 Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk Odontoblast-like Cell</i>	48
A.2 Uji Homogenitas <i>Levene-Test Odontoblast-like Cell</i>	48
A.3 Uji <i>One Way Anova Odontoblast-like Cell</i>	48
A.4 Uji <i>LSD Odontoblast-like Cell</i>	49
B. Hasil Perhitungan Jumlah <i>Odontoblast Like Cell</i>	50
C. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	51
C.1 Foto Alat Penelitian.....	51
C.2 Foto Bahan Penelitian	54
D. Hasil Gambar Preparat Histologi	55
D.1 Kelompok Sampel yang Hanya Ditumpat Sementara dengan CavitonSelama 14 Hari	55
D.2 Kelompok Sampel yang Dipapar <i>Bioactive Glass Nano Silica</i> dari Abu Ampas Tebu Selama 14 Hari	56
D.3 Kelompok Sampel yang Hanya Ditumpat Sementara dengan CavitonSelama 28 Hari	57
D.4 Kelompok Sampel yang Dipapar <i>Bioactive Glass Nano Silica</i> dari Abu Ampas Tebu Selama 28 Hari	58
E. Hasil Identifikasi Tanaman Tebu	59
F. Surat Izin Pembuatan Preparat Histologi.....	60
G. Surat Izin Pembuatan <i>Bioactive Glass</i>	61
H. Surat Izin Perlakuan Hewan Coba	62

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dentin merupakan salah satu struktur pembentuk gigi yang tersusun atas 70% bahan anorganik, 20% bahan organik dan 10% air (Zou, 2007). Di dalam dentin terdapat tubulus dentinalis yang menjulur dari pulpa hingga ke *dentino enamel junction* dan mengandung banyak sel odontoblas. Jaringan keras ini berfungsi sebagai pelindung dari pulpa gigi dari bahaya mikroorganisme yang bisa menyebabkan pulpa mengalami kematian (Walton, 2008).

Pulpa yang terkena jejas akan mengadakan reaksi pertahanan berupa respon inflamasi, sintesa kolagen, dan pembentukan dentin reparatif. Namun apabila jejas terus – menerus dibiarkan tanpa adanya tindakan, hal ini akan menyebabkan pulpa mengalami kematian (Sabir, 2003). Penyebab paling banyak pulpa mengalami kematian yaitu oleh karies. Menurut Nofai (2017), penyakit gigi berupa karies menjadi urutan tertinggi yaitu sebesar 45,68% dan termasuk dalam 10 penyakit besar yang diderita masyarakat. Sehingga diperlukan suatu perawatan yang bertujuan untuk mempertahankan vitalitas dari pulpa.

Vitalitas dari pulpa bisa dipertahankan dengan terbentuknya dentin reparatif untuk mencegah pulpa yang terbuka mengalami kematian. Respon awal dari pembentukan dentin reparatif yaitu dengan terbentuknya *odontoblast-like cell*. *Odontoblast-like cell* merupakan sel yang dapat membentuk dentin karena respon dari adanya karies, trauma, ataupun prosedur restorasi. Dentin yang terbentuk melalui *odontoblast-like cell* pada umumnya tidak teratur jika dibandingkan dengan dentin primer dan dentin sekunder (Walton, 2008). *Odontoblast-like cell* mulai terbentuk pada hari ke 14 (Wang dkk., 2014).

Saat adanya iritan pada jaringan pulpa maka proses inflamasi akan terjadi. Inflamasi bertujuan untuk mempertahankan diri dari iritan berbahaya yang bisa menyebabkan kerusakan pada jaringan pulpa. Pada saat inflamasi, fibroblas akan bermigrasi ke daerah yang terkena iritan untuk berproliferasi dan menghasilkan banyak matriks kolagen yang berguna dalam memperbaiki jaringan yang rusak. Pada saat proses inflamasi terjadi, *growth factor* juga memiliki pengaruh penting

terhadap respon perbaikan jaringan. Iritan akan menstimulasi aktivitas odontoblas untuk meningkatkan ekspresi *transforming growth factor beta 1* (TGF- β 1). TGF- β 1 merupakan regulator yang penting terhadap proliferasi dan diferensiasi dari sel pulpa. TGF- β 1 akan mengaktifkan siklus sel pulpa untuk berproliferasi dan melakukan proses mitosis yang nantinya akan berdiferensiasi menjadi *odontoblast-like cell* (Dwiandhono dkk., 2016). Bahan yang biasanya digunakan sebagai pemicu untuk mempercepat pembentukan *odontoblast-like cell* adalah kalsium hidroksida dan *mineral trioxide aggregate* (MTA) (Gong dkk., 2014).

Kalsium hidroksida merupakan bahan yang sudah lama digunakan sebagai perangsang pembentukan *odontoblast-like cell*. Namun beberapa penelitian menyatakan bahwa dentin tersier yang terbentuk karena bahan ini memiliki karakteristik yang porus. Sedangkan untuk MTA meskipun membentuk dentin tersier yang lebih tebal dibandingkan kalsium hidroksida, akan tetapi MTA memiliki kekurangan yaitu memiliki waktu setting yang lama dan berpotensi untuk mengubah warna dari jaringan gigi (Gong dkk., 2014). Bahan lain yang belum banyak diteliti yang bisa merangsang terbentuknya *odontoblast-like cell* adalah *bioactive glass nano silica* (Wang dkk., 2014).

Bioactive glass nano silica pertama kali dikenalkan oleh Hench pada tahun 1969, secara umum *bioactive glass nano silica* tersusun atas SiO₂ 46,1 mol.%, Na₂O 24,4 mol.%, CaO 26,9 mol.%, dan P₂O₅ 2,6 mol.% (Abbasi dkk., 2015). *Bioactive glass nano silica* telah dikenal sebagai pemicu regenerasi jaringan keras maupun jaringan lunak pada gigi (Jun dkk., 2016). Di bidang kedokteran gigi, *bioactive glass nano silica* ini dapat digunakan untuk meregenerasi dentin, *scaffold*, dan perawatan pada gigi yang sensitif (Abbasi dkk., 2015).

Bioactive glass nano silica merupakan bahan yang mudah bereaksi dengan cairan tubuh dan membentuk ikatan yang kuat dengan tulang melalui pembentukan lapisan hidroksiapatit (Jun dkk., 2016). *Bioactive glass nano silica* akan mengalami pelepasan ion awal ketika berkontak dengan cairan tubuh yang akan menghasilkan lapisan *hidroksikarbonate apatit* (HCA). Ketika terjadi pelepasan ion pada *bioactive glass nano silica*, hal ini akan memicu sel pulpa untuk berproliferasi dan berdiferensiasi. Selain itu, *bioactive glass nano silica*

juga menyebabkan pH disekitarnya akan menjadi basa yang berguna untuk sel tumbuh (Wang dkk., 2014). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hidayat, (2016) membuktikan bahwa *bioactive glass nano silica* yang dibuat dari abu ampas tebu dapat menghasilkan HCA saat direndam dengan saliva buatan.

Bioactive glass nano silica memiliki partikel berukuran nano sehingga luas permukaannya semakin besar. Luas permukaan yang semakin besar akan membuat partikel yang berkontak semakin banyak menyebabkan ion yang larut juga semakin banyak. Banyaknya ion yang terlarut ini dapat mempercepat pembentukan *hidroksikarbonate apatite* (Carvalho dkk., 2013). *Bioactive glass nano silica* yang beredar dipasaran saat ini yaitu *bioactive glass sintetis 45S5*. Meskipun memiliki banyak sekali manfaat, namun untuk mendapatkannya masih sangat sulit dan juga harganya yang relatif mahal. Kandungan terbesar dari komposisi penyusun *bioactive glass nano silica* adalah silika. (Abbasi dkk., 2015).

Salah satu sumber silika yang masih belum dimanfaatkan secara maksimal berasal abu ampas tebu dari pabrik gula. Abu ampas tebu mengandung mineral – mineral yang berupa Si, K, Ca, Ti, V, Mn, Fe, Cu, Zn dan P. Kandungan yang paling besar dari mineral – mineral tersebut adalah silika sebesar 55,5% (Kristianingrum dkk., 2011). Kandungan silika yang terdapat pada abu ampas tebu yang lebih dari 50% ini berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan *bioactive glass nano silica* (Yusuf, 2014).

Bioactive glass nano silica 45S5 memiliki beberapa kekurangan diantaranya bahannya yang masih susah untuk didapatkan dan harganya relatif mahal, selain itu juga limbah dari pabrik gula masih belum dapat dimanfaatkan secara optimal. Oleh karena itu dilakukan penelitian terhadap *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu yang memiliki manfaat diantaranya memanfaatkan limbah yang belum diolah secara maksimal dan juga harganya yang relatif murah (Suhendrawati dkk., 2014).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu terhadap pembentukan *odontoblast-like cell* pada tikus wistar jantan. Diharapkan dengan

pemberian *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu ini bisa meningkatkan pembentukan *odontoblast-like cell*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu bisa meningkatkan terbentuknya *odontoblast-like cell* ?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis peningkatan pembentukan *odontoblast-like cell* pada pulpa yang diberi *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui peningkatan pembentukan *odontoblast-like cell* pada pulpa yang diberi *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu.
2. Memanfaatkan limbah abu ampas tebu yang belum termanfaatkan dengan maksimal.
3. *Bioactive glass nano silica* dapat digunakan sebagai bahan di Kedokteran Gigi.
4. Sebagai acuan penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dentin

Dentin merupakan salah satu struktur pembentuk gigi yang terusun atas 70% bahan anorganik, 20% bahan organik dan 10% air (Zou, 2007). Dentin ini berfungsi sebagai pelindung dari pulpa gigi dari bahaya mikroorganisme yang bisa menyebabkan pulpa mengalami kematian (Walton, 2008).

2.1.1 Macam Dentin

Macam - macam dentin berdasarkan waktu terbentuknya terdiri dari :

a. Dentin primer

Dentin primer merupakan dentin yang terbentuk pada saat gigi belum erupsi, pembentukannya akan lengkap setelah akar gigi terbentuk.

b. Dentin sekunder

Dentin sekunder merupakan kontinuitas dari dentin primer yang pembentukannya berjalan lambat pada sisa masa pertumbuhan gigi.

c. Dentin tersier

Dentin tersier adalah dentin yang terbentuk sebagai mekanisme pertahanan terhadap hilangnya email, dentin, atau sementum. Terdapat dua tipe dentin tersier berdasarkan sel yang bertanggung jawab pada pembentukan dentin, yaitu dentin reparatif dan dentin reaksioner. Dentin reparatif merupakan dentin tersier yang terbentuk karena ada rangsangan kuat, pembentukannya dilakukan oleh sel odontoblas. Dentin reaksioner adalah dentin tersier yang terbentuk karena adanya rangsangan ringan (Hargreaves, 2002).

2.2 Pulpa

2.2.1 Anatomi Pulpa

Anatomis pulpa terbagi menjadi dua bagian, pulpa pada bagian koronal dan pulpa pada bagian radikuler. Pulpa koronal terletak di kamar pulpa pada bagian mahkota gigi, termasuk juga tanduk pulpa. Pulpa radikuler berada pada kanal pulpa di dalam bagian akar gigi. Pulpa terdiri atas syaraf-syaraf, arteri, vena,

saluran kelenjar getah bening, sel-sel jaringan ikat, odontoblas, fibroblas, makrofag, kolagen, dan serabut-serabut halus. Pada bagian tengah dari pulpa mengandung pembuluh darah besar dan batang syaraf (Roberson, 2006).

Sel pulpa yang bertanggung jawab dalam pembentukan dentin adalah odontoblas (Chavez, 2004). Tubuli dentin terletak sepanjang *dentino enamel junction*. Ujung distal dari tubuli dentin yang terkena iritasi akan memacu odontoblas untuk membentuk lebih banyak dentin, apabila terbentuknya berada didalam pulpa disebut dentin reparatif, apabila terbentuk didalam tubuli disebut dentin peritubular (Harty, 2010).

2.2.2 Fungsi Pulpa

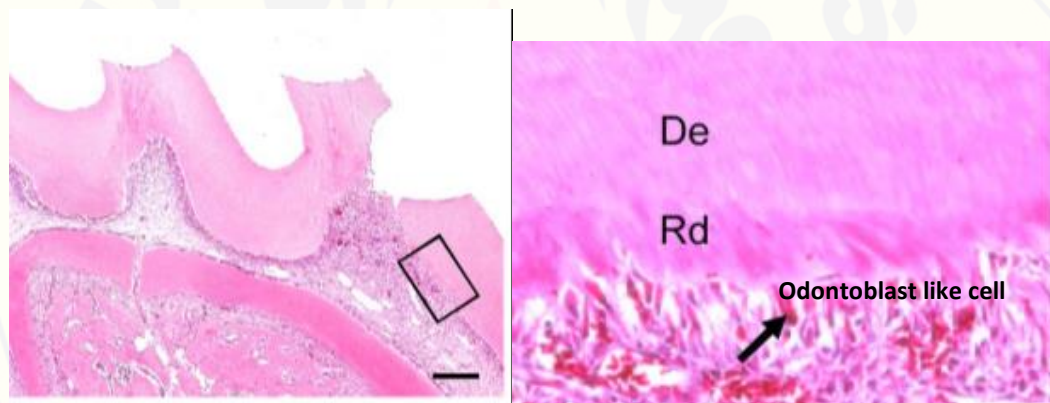
Pulpa mempunyai empat fungsi : (1) fungsi dentinogenik yaitu sel pulpa gigi odontoblas mempunyai peran untuk membentuk dentin dan menghasilkan serabut-serabut kolagen, (2) fungsi nutritif, jumlah air dan nutrisi ini dibutuhkan untuk metabolisme dentin, (3) fungsi defensif bersifat melindungi, pulpa akan mengalami inflamasi jika ada invasi bakteri dan terkena trauma, (4) fungsi sensori, pulpa akan merespon cedera dengan rasa sakit (Walton dan Torabinejad. 2008).

2.3 Odontoblast Like Cell

Odontoblast-like cell merupakan sel yang dapat membentuk dentin karena respon dari adanya karies, trauma, ataupun prosedur restorasi. Dentin yang terbentuk melalui *odontoblast-like cell* dinamakan dentin reparatif, pada umumnya dentin yang terbentuk oleh *odontoblast-like cell* tidak teratur jika dibandingkan dengan dentin primer dan dentin sekunder (Walton, 2008).

Odontoblast-like cell ini hanya dapat ditemukan pada daerah sekitar jejas. *Growth factor* merupakan hal terpenting dalam pembentukan *odontoblast-like cell* karena memiliki peranan menstimulasi sel fibroblas menjadi *odontoblast-like cell* yang akhirnya akan termineralisasi dan menjadi dentin repatatif (Vishwakarma dkk., 2015).

Saat adanya jejas pada jaringan pulpa maka proses inflamasi akan terjadi. Inflamasi bertujuan untuk mempertahankan diri dari iritan berbahaya yang bisa menyebabkan kerusakan pada jaringan pulpa. Pada saat inflamasi, fibroblas akan bermigrasi ke daerah yang terkena iritan untuk berproliferasi dan menghasilkan banyak matriks kolagen yang berguna dalam memperbaiki jaringan yang rusak. Pada saat proses inflamasi terjadi, *growth factor* juga memiliki pengaruh penting terhadap respon perbaikan jaringan. Iritan akan menstimulasi aktivitas odontoblas untuk meningkatkan ekspresi *transforming growth factor beta 1 (TGF – $\beta 1$)*. *TGF – $\beta 1$* merupakan regulator yang penting terhadap proliferasi dan diferensiasi dari sel mesenkim pulpa. *TGF- $\beta 1$* akan mengaktifkan siklus sel untuk berproliferasi dan sel – sel akan melakukan proses mitosis dan akan berdiferensiasi menjadi *odontoblast-like cell* (Dwiandhono dkk., 2016).



Gambar 2.1 *Odontoblast like cell* (Han., dkk 2014)

2.4 *Bioactive glass*

2.4.1 Pengertian *Bioactive Glass*

Bioactive glass merupakan bagian dari bahan anorganik *bioactive* yang mampu bereaksi dengan cairan tubuh untuk membentuk ikatan yang kuat dengan tulang melalui pembentukan lapisan hidroksiapatit dan interaksi biologis dari kolagen dengan permukaan bahan (Chen dkk., 2008).

2.4.2 Kandungan *Bioactive Glass*

Bioactive glass secara umum tersusun dari Natrium Oksida (Na_2O), Kalsium Oksida (CaO), Silikon Dioksida (SiO_2), Difosfor Pentaoksida (P_2O_5).

Bahan ini mampu membentuk Hidroksikarbonat apatit (HCA) dalam waktu kurang dari 2 jam (Farooq dkk., 2012).

2.4.3 Kegunaan *Bioactive Glass*

Bahan *bioactive glass* memiliki fungsi yang sangat luas dalam bidang kesehatan, terutama dalam bidang kedokteran gigi yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi dentin, karena dapat merangsang pertumbuhan dari dentin dengan adanya pembentukan hidroksikarbonat apatit. Selain itu, *bioactive glass* juga digunakan sebagai bahan untuk perawatan pada gigi yang sensitif dengan cara bahan ini akan memineralisasi dari tubuli dentinalis (Abbasi dkk., 2015).

2.4.4 *Bioactive Sol-Gel Glass*

Bioactive glass dapat dibuat dengan menggunakan dua metode pengolahan: metode *traditional melt-quenching* dan metode *sol-gel*. *Bioactive glass* 45S5 dan *bioactive glass* komersial lainnya yang dibuat dengan metode *traditional melt-quenching* dimana oksida dilelehkan bersama-sama pada suhu tinggi (di atas 1.300°C) dalam cawan platinum dan padam dalam cetakan grafit (untuk batang atau monolit) atau di dalam air (*frit*). Metode *sol-gel* dasarnya membentuk dan merakit nanopartikel silika pada suhu kamar. Ini adalah metode sintesis berbasis kimia di mana larutan yang mengandung prekursor komposisi mengalami *polymertype* reaksi pada suhu kamar untuk membentuk gel. Gel adalah jaringan basah anorganik silika kovalen, yang kemudian dapat dikeringkan dan dipanaskan, misalnya pada suhu 600°C untuk menjadi *glass* (Sarvanapavan dkk., 2003).

Perbedaan fisik dalam metode *traditional melt-quenching* dan *sol-gel glass* adalah *sol-gel* cenderung memiliki nanoporositas daripada metode *traditional meltquenching* gelas yang padat. Nanoporositas dapat meningkatkan respon seluler karena *nanotopography* dan luas permukaan dua kali lipat lebih tinggi daripada komposisi serupa dengan metode *traditional melt-quenching*. Komposisi *sol-gel* biasanya memiliki komponen lebih sedikit dari bioaktif *glass* dengan metode *traditional meltquenching*. Hal ini karena peran utama Na₂O pada

metode *traditional melt-quenching bioactive glass* adalah untuk menurunkan titik leleh dan meningkatkan *processability*. Hal ini juga meningkatkan kelarutan kaca yang penting untuk bioaktivitas. Luas permukaan dengan metode *sol-gel* menghasilkan tingkat kelarutan tinggi dan karena tidak ada titik leleh yang terlibat, natrium tidak diperlukan dalam komposisi. Metode sol-gel memiliki komposisi 46,1 mol.% SiO₂, 24,4 mol.% Na₂O, 26,9 mol.% CaO dan 2,6 mol.% P₂O₅, meskipun gel tidak harus dipanaskan di atas 600° C jika gelas yang tetap amorf (Jones, 2013).

2.4.5 Bioactive Glass Silika

Bioactive Glass Silica merupakan jenis bahan *bioactive glass* yang terdiri dari silika sebagai komposisi utamanya, dan campuran bahan lain sebagai tambahannya. Salah satu contoh *bioactive glass silica* adalah *bioactive glass 4S5S*. Bahan ini memiliki sifat biokompatibel terhadap tubuh dan digunakan secara luas dalam dunia kedokteran, terutama dalam hal penyembuhan tulang. Pembentukan tulang ini dipacu dengan adanya kristalisasi dari hidroksiapatit (Rahaman dkk., 2011).

2.5 Silika

Silika adalah senyawa kimia dengan rumus molekul SiO₂ (*silicon dioxida*) yang dapat diperoleh dari silika mineral, nabati dan sintesis kristal. Silika mineral adalah senyawa yang banyak ditemui dalam bahan tambang/galian yang berupa mineral seperti pasir kuarsa, granit, dan feldspar yang mengandung kristal-kristal silika (SiO₂). Selain terbentuk secara alami, silika dengan struktur kristal tridimit dapat diperoleh dengan cara memanaskan pasir kuarsa pada suhu 870°C dan bila pemanasan dilakukan pada suhu 1470°C dapat diperoleh silika dengan struktur kristobalit. Silika juga dapat dibentuk dengan mereaksikan silikon dengan oksigen atau udara pada suhu tinggi (Bragmann and Goncalves, 2006).

Silica termasuk dalam golongan bahan oksida yang mempunyai potensi untuk pemanfaatan aplikasi teknologi tinggi. Berdasarkan hasil pengujian terbaru, didapatkan bahwa unsur *silica* yang paling dominan di dalam bahan *biactive*

glass juga terdapat di dalam ampas tebu (Kharimah dkk., 2014). Pada ampas tebu (*baggase*) terdapat kandungan *sillica* (SiO_2) yang cukup tinggi, yaitu lebih dari 50% sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan *biactive glass nano sillica* (Yusuf, 2014).

2.6 Tebu

2.6.1 Asal dan penyebaran tanaman tebu

Tebu merupakan tanaman yang berasal dari India, namun banyak juga literatur yang menyatakan bahwa tebu berasal dari Polynesia. Meski demikian, menurut Nikolai Ivanovich Vavilov, seorang ahli botani Soviet, yang telah melakukan ekspedisi pada 1887-1942 ke beberapa daerah di Asia, Eropa, Afrika, Amerika Selatan, dan seluruh Uni Soviet memastikan bahwa sentrum utama asal tanaman ini adalah India dan Indo-Malaya (Ahira, 2009).

Hasil ekspedisi Vavilov menyimpulkan bahwa India merupakan daerah asal tanaman padi, tebu, dan sejumlah besar *Leguminosae* serta buah-buahan. Dari sentrum utama asal tebu di India dan Indo-Malaya, kemudian ditanam meluas secara komersial di berbagai Negara di dunia, baik yang iklimnya tropis maupun yang iklimnya sub-tropis. Negara-negara penghasil gula tebu di dunia, antara lain: India, Kuba, Puerto Rico, Brasil, Philipina, Taiwan, Hawaii, Argentina, Peru, Lusiana, Australia, dan Indonesia (Ahira, 2009).

Di kawasan Indo – Malaya yang meliputi Indo – China, Malaysia, Philipina dan Indonesia ditemukan juga tanaman tebu. Dengan demikian tidaklah mengherankan jika Indonesia disebut – sebut sebagai salah satu sentrum asal tebu. Berdasarkan catatan sejarah, penduduk Jawa telah menanam tebu sejak 400 Masehi. Nutfah tebu ditemukan tumbuh liar di Kalimantan, Sulawesi, Maluku, dan Irian Jaya (Ahira, 2009).

Di Indonesia, komoditas tebu memiliki sejarah panjang dan berubah-ubah. Sentrum penanaman tebu di Indonesia mulanya terpusat di Pulau Jawa, yang dirintis waktu kolonialisasi Belanda. Penanaman tebu diberlakukan secara paksa dan perdagangan gulanya dimonopoli oleh Belanda (Ahira, 2009).

Pasca kolonialisasi Belanda, pengembangan tebu pada umumnya dalam bentuk perkebunan swasta yang didominasi oleh orang-orang Tionghoa. Dalam beberapa tahun terakhir, pengembangan tanaman tebu makin meluas ke berbagai daerah, termasuk dikeluarkannya kebijakan pemerintah untuk pengembangan industri gula di Kawasan Timur Indonesia (KTI) (Ahira, 2009).

2.6.2 Klasifikasi Tanaman Tebu

Berikut ini merupakan klasifikasi botani dari tanaman tebu (Leovici, 2012) :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Liliopsida</i> (berkeping satu/monokotil)
Sub Kelas	: <i>Commelinidae</i>
Ordo	: <i>Poales</i>
Famili	: <i>Poaceae</i> (suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Saccharum</i>
Spesies	: <i>Saccharum officinarum</i> L.

2.6.3 Morfologi Tanaman Tebu

Morfologi dari tanaman tebu mirip dengan tumbuhan dari famili rumput-rumputan. Tanaman tebu ini memiliki tinggi antara 2 hingga 5 meter. Daun dari tanaman tebu ini merupakan jenis daun tidak lengkap karena hanya terdiri dari helai dan pelepah. Daun tebu memiliki panjang sekitar 1-2 meter dan lebar 4-8 cm. Permukaan dari daunnya kasar dan berbulu dengan warna daun hijau kekuningan hingga hijau tua (Putri dkk., 2010).

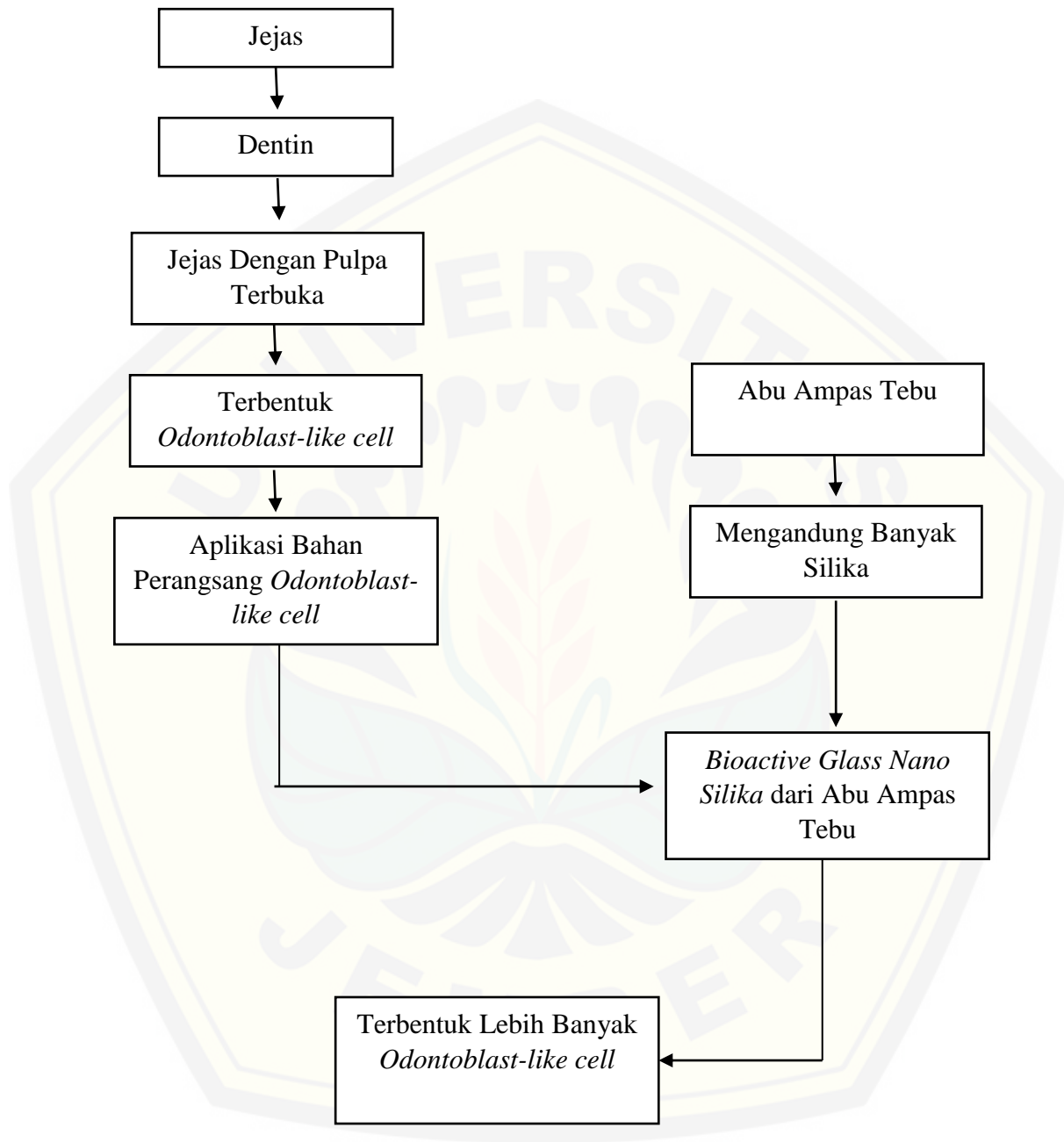
Batang dari tanaman tebu ini berbentuk ruas-ruas yang dibatasi oleh buku-buku. Penampang dari batang tanaman tebu melintang dan agak pipih dengan warna hijau kekuningan. Pada bagian pangkal sampai pertengahan batang memiliki ruas yang panjang, sedangkan pada bagian pucuk memiliki ruas yang pendek (Putri dkk., 2010).

Tanaman tebu memiliki akar serabut yang dapat dibedakan menjadi akar primer dan akar sekunder. Akar primer adalah akar yang tumbuh dari mata akar buku tunas stek batang bibit. Karakteristik akar primer yaitu halus dan bercabang banyak. Sedangkan akar sekunder adalah akar yang tumbuh dari mata akar dalam buku tunas yang tumbuh dari stek bibit, bentuknya lebih besar, lunak dan sedikit bercabang (James, 2004).



Gambar 2.2 Tanaman tebu (Indrawanto dkk., 2010)

2.7 Peta Konsep



Gambar 2.3 Peta konsep

2.8 Hipotesis Penelitian

Terdapat peningkatan pembentukan *odontoblast-like cell* pada pulpa yang diberi bahan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratories secara *in vivo*. Rancangan penelitian ini menggunakan *the post-test only control group* yaitu pengamatan atau pengukuran pada kelompok perlakuan dan membandingkannya dengan kelompok kontrol dalam waktu tertentu. Dilakukan secara langsung pada gigi molar tikus wistar jantan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Pembuatan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu dilakukan di Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember.
- b. Pembuatan saliva buatan dilakukan di Laboratorium Biosains Polteknik Negeri Jember.
- c. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- d. Pembuatan dan pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2017.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bahan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah *odontoblast-like cell* pada pulpa gigi tikus wistar jantan.

3.3.3 Variable Terkendali

1. Tahap preparasi gigi M1 kanan rahang bawah tikus wistar jantan.
2. Tahap pemotongan jaringan
3. Tahap pengaplikasian bahan

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Abu Ampas Tebu

Abu ampas tebu merupakan sisa dari tebu yang telah diambil sarinya, diperoleh dari Pabrik Gula Leces, Lumajang, diproses menjadi abu ampas tebu dengan cara dikeringkan, dibakar dengan api, dan dibakar dalam furnace bersuhu 900⁰C

3.4.2 *Bioactive Glass Nano Silica* dari Abu Ampas Tebu

Bioactive glass nano silica adalah *bioactive glass* yang memiliki partikel silika yang berukuran nano yang berasal dari abu ampas tebu setelah proses furnace dengan suhu 900⁰C. Abu ampas tebu yang telah difurnace diayak menggunakan ayakan 200 mesh. Abu ampas tebu kemudian dicampur dengan berbagai bahan kimia dan diaduk menggunakan pengaduk magnet hingga terbentuk gel dan didiamkan dalam temperatur ruang selama 5 hari. Selanjutnya gel tersebut dikeringkan dengan oven bersuhu 60⁰C selama 72 jam. Pengeringan akhir dilakukan menggunakan alat furnace dengan suhu 600⁰C selama 5 jam dan dilanjutkan dengan suhu 1000⁰C selama 2 jam hingga terbentuk bubuk *bioactive glass nano silica*.

3.4.3 *Odontoblast-like cell*

Odontoblast-like cell dalam penelitian ini adalah sel – sel pembentuk dentin reparatif dari pulpa gigi tikus wistar jantan yang merupakan respon pulpa terhadap pemberian *bioactive glass nano silica* yang diamati dibawah mikroskop. Sel - sel tersebut terletak di dasar kavitas bagian bawah dari bahan yang telah diaplikasikan. Sel ini menyerupai odontoblas dan berbentuk columnar yang memanjang dengan nukleus yang jelas berwarna eosnophilik.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat 200-250 gr yang dilakukan adaptasi selama 1 minggu.

3.5.2.. Kriteria Sampel

Penelitian dilakukan menggunakan 24 ekor tikus Wistar jantan dengan kriteria inklusi sebagai berikut:

- a. berat badan 200-250 gr,
- b. Jenis kelamin jantan,
- c. berusia 2-3 bulan,
- d. keadaan umum tikus baik (warna bulu putih bersih, mata tikus merah normal). Kriteria eksklusi adalah tikus yang tidak sehat dan mati selama penelitian. Tikus dinyatakan *drop out* jika memiliki kriteria eksklusi dan diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi.

3.5.3 Pengelompokan Sampel

Jumlah kelompok sampel dalam penelitian ini adalah 2 kelompok, dengan penjelasan sebagai berikut:

Kelompok Kontrol

- a. Sampel dipreparasi lalu ditumpat dengan tumpatan sementara, kemudian dikorbkan pada hari ke 14 dan 28 setelah perlakuan.

Kelompok Perlakuan

- a. Sampel dipapar *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu lalu ditumpat, kemudian dikorbakan pada hari ke 14 dan 28 setelah paparan.

3.5.4 Besar Sampel

Jumlah sampel yang digunakan pada penilaian ini ditentukan melalui rumus besar sampel sebagai berikut:

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

$$n = \frac{1,96^2 \cdot \sigma^2}{\sigma^2}$$

$$n = \frac{1,96^2 \cdot \sigma^2}{\sigma^2}$$

$$n = 1,96^2$$

Error! Reference source not found.

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

$$n = \frac{1,96^2 \cdot \sigma^2}{\sigma^2}$$

$$n = \frac{1,96^2 \cdot \sigma^2}{\sigma^2}$$

$$n = 1,96^2$$

Error! Reference source not found.

$$n = 4$$

Keterangan :

n = Besar sampel minimum

Error! Reference source not found. = Standart deviasi sampel

d = Kesalahan yang masih dapat di toleransi, diasumsikan d = **Error!**

Reference source not found.

z = Konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $z = 1,96$ (Budiarto, 2002).

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus di atas, sampel yang dibutuhkan untuk mengetahui kemampuan merangsang pembentukan *odontoblast like cell* pada *bioactive glass nano silica* adalah sebanyak 4 sampel.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

1. Oven (Mettler, UL 40, Jerman)
2. *Muffle furnace*(Heraeus, Jerman)
3. Ayakan 200 mesh
4. Timbangan digital (Sartorius, Jerman)
5. Mortar dan pastel
6. PH meter elektrik(Cyberscan, USA)
7. Pengaduk magnet (Wisestir, Daihan Scientific)
8. Beaker glass
9. Sendok kecil
10. Tabung erlenmayer
11. Corong kaca
12. Cawan Porselen
13. Kaca mulut no.3 dan no.4
14. Sonde lurus
15. Pinset
16. Mata bur bulat no. 10 diameter 1 mm² (Edenta, Swiss)
17. *Syringe*
18. *Handpiece low speed*(W&H, Jerman)
19. Spatula semen
20. Masker
21. *Glass plate*
22. Sarung tangan latex
23. *Object glass* (Citoglass)
24. *Deck glass*(Menzel glaser)

25. Mikrotom
26. *Blade* dan *scalpel*
27. Mikroskop binokuler (Olimpus, Jepang)

3.6.2 Bahan Penelitian

1. Tikus wistar jantan (24 ekor),
2. Ampas tebu,
3. Aquades,
4. NaOH 2 N,
5. Etanol 2,5 ml,
6. HNO₃ 2 M,
7. P₂O₅ (0,5 g),
8. Ca (NO₃)₂ . 4 H₂O (4,1 g),
9. *Bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu,
10. Tumpatan sementara (cavition)
11. Larutan metilen biru 1%,
12. Kertas saring Whatman, No 42
13. Tisu,
14. Larutan anestesi *ketamine HCl*
15. Aluminium foil
16. *Cotton pelet*,
17. *Cotton roll*,
18. *Paper pad*
19. Bahan fiksasi *buffer* formalin 10%
20. Alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
21. *Xylol*
22. Bahan dekalsifikasi asam formit
23. Pewarna *hematoxylin eosin*
24. NaCl
25. NaHCO₃
26. KCl

27. Na_2HPO_4

28. KH_2PO_4

29. KSCN

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Uji Identifikasi Ampas tebu

Identifikasi spesies tebu dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan - Jawa Timur

b. *Ethical Clearance*

Sebelum dilakukan penelitian, tata laksana hewan coba dan prosedur yang dilakukan harus sesuai dengan *ethical clearance* pada Komisi Etik Penelitian Kesehatan, 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 *dry heat oven* selama 15 menit dengan suhu 100°C .

d. Pembuatan *bioactive glass nano silica* (Adams dkk., 2013)

1. Ampas tebu dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian dibakar dengan api selama sampai menjadi abu ampas tebu.



Gambar 3.1 Proses pembakaran ampas tebu dengan api (Sumber : Koleksi Pribadi)

2. Abu ampas tebu dibakar dalam alat furnace bersuhu 900°C selama 2 hari hingga menjadi abu ampas tebu yang berwarna kecoklatan.



Gambar 3.2 Proses pengeringan ampas tebu dengan *furnace* (Sumber : Koleksi Pribadi)

3. Mengayak abu ampas tebu yang berwarna kecoklatan dengan ayakan 200 mesh



Gambar 3.3 Pengayakan abu ampas tebu (Sumber : Koleksi Pribadi)

4. 25 gram abu ampas tebu yang berwarna kecoklatan dimasukkan ke dalam gelas erlenmayer, kemudian ditambahkan larutan HCl 150 ml 0.1 M, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet selama 1 jam. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan logam lain selain silika yang terdapat pada abu. Hasil pengadukan tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam;



Gambar 3.4 Pengadukan abu ampas tebu dengan larutan HCl (Sumber : Koleksi Pribadi)

5. Kemudian larutan diatas disaring menggunakan kertas saring whatman no. 42 dan dibilas dengan akuades hingga pH normal (7). Pengecekan pH dilakukan menggunakan alat pH meter;



Gambar 3.5 Penyaringan campuran abu ampas tebu dengan larutan HCl menggunakan kertas saring (Sumber : Koleksi Pribadi)

6. Mengeringkan abu ampas tebu di atas dalam oven bersuhu 110° C selama 2 jam, kemudian ditimbang



Gambar 3.6 Pengeringan menggunakan oven (Sumber : Koleksi Pribadi)

7. Abu yang akan digunakan pada tahap selanjutnya adalah 10 gram. Abu tersebut dimasukkan ke dalam gelas erlenmayer, kemudian dicampur dengan larutan 60 ml NaOH 2 N, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet. Suhu alat pengaduk magnet diaktifkan dan diatur sampai larutan mendidih selama 60 menit;



Gambar 3.7 Penimbangan abu ampas tebu dan pengadukan campuran abu ampas tebu dengan NaOH (Sumber : Koleksi Pribadi)

8. Mendinginkan campuran di atas hingga mencapai suhu kamar, kemudian disaring dengan kertas saring whatman no 42. Hasil dari penyaringan ini adalah filtrat berupa natrium silika;
9. Mengeringkan natrium *silika* dengan oven bersuhu 110° selama 2 jam (Kristianingrum, dkk.);



Gambar 3.8 Natrium silikat kering (Sumber : Koleksi Pribadi)

10. Natrium silika yang akan digunakan pada tahap selanjutnya adalah 5 gram. Natrium silika tersebut dimasukkan ke dalam gelas erlenmayer, kemudian dicampur dengan 15 ml akuades, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet;
11. Kemudian 2,5 ml etanol 96% ditambahkan pada campuran di atas, dan tetap diaduk sampai larutan terlihat jernih;

12. Kemudian HNO_3 2 M ditambahkan sampai pH larutan menjadi normal (7). Pengecekan pH dilakukan menggunakan alat pH meter. Campuran di atas tetap diaduk secara otomatis selama 1 jam;
13. Setelah 1 jam pengadukan, 0,5 gram P_2O_5 (*phosporus pentoxide*) ditambahkan dan tetap diaduk selama 45 menit;
14. Selanjutnya ditambahkan 4,1 gram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (*calcium nitrate tetrahydrat*) dan tetap diaduk selama 45 menit;
15. Terakhir campuran tersebut diaduk selama 1 jam sampai konsistensinya seperti gel dan kemudian didiamkan selama 5 hari dalam temperatur ruang;
16. Kemudian gel tersebut dikeringkan dalam oven bersuhu 60°C selama 72 jam. Pengeringan akhir dilakukan menggunakan alat furnace dengan suhu 600°C selama 5 jam, dilanjutkan dengan suhu 1000°C selama 2 jam.



Gambar 3.9 Hasil campuran abu ampas tebu yang siap dikeringkan dalam oven
(Sumber : Koleksi Pribadi)

17. *Bioactive glass* digerus dan diayak menggunakan ayakan 200 mesh.
18. Setelah digerus, *bioactive glass* dipanaskan lagi pada suhu 900°C selama 5 jam untuk membentuk struktur semi-kristalin.
19. *Bioactive glass* digerus dan diayak menggunakan ayakan 200 mesh.
20. Hasil akhir proses proses di atas disebut *bioactive glass nano silica*.
21. *bioactive glass nano silica* yang sudah jadi dimasukkan dalam botol dan diambil apabila dibutuhkan.

e. Pembuatan Saliva Buatan (Dewi, 2012)

Memasukkan NaCl 6,70 gram, NaHCO₃ 1,50 gram, KCl 1,20 gram, Na₂HPO₄ 0,26 gram, KH₂PO₄ 0,20 gram, KSCN 0,33 gram ke dalam gelas ukur, lalu ditambahkan aquades steril hingga 1000 ml.

3.7.2 Tahap Adaptasi

Tikus Wistar sebanyak 16 ekor dengan berat 200-250 grsetiap ekornya diadaptasikan selama satu minggu sebelum mulai diberikan perlakuan diLaboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Farmasi Universitas Jember.



Gambar 3.10 Adaptasi tikus (Sumber : Koleksi Pribadi)

3.7.3 Tahap Perlakuan

- Memfiksasi tikus dengan cara menggenggam badan tikus.
- Menganestesi tikus pada kaki secara intra muscular dengan obat anastesi berupa *Ketamin HCL & Xylazine* masing – masing sebanyak 0,2 ml/200 gram berat badan sebelum dilakukan preparasi kavitas.



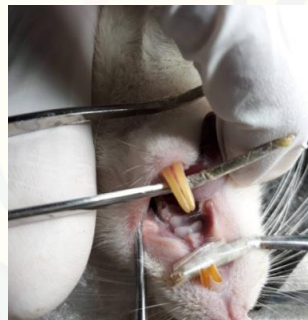
Gambar 3.11 Anestesi tikus dengan difiksasi (Sumber : Koleksi Pribadi)

- c. Tikus yang sudah dianestesi diposisikan terlentang diatas meja dan memfiksasi dengan jari tangan pada bagian leher.



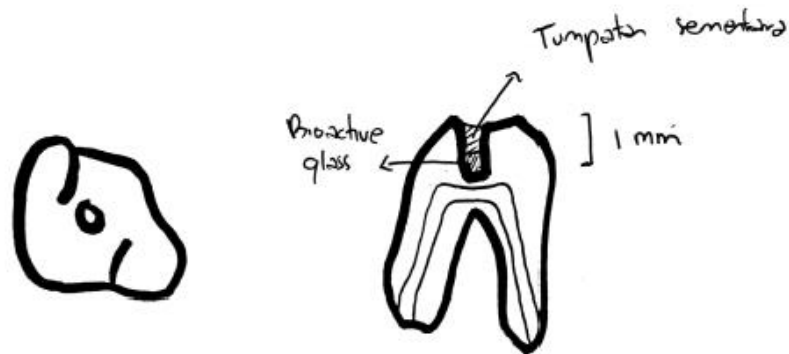
Gambar 3.12 Tikus yang teranestesi diposisikan terlentang (Sumber : Koleksi Pribadi)

- d. Meretraksi pipi tikus dengan menggunakan kaca mulut no.3, kemudian diasepsis dengan menggunakan *cotton pellet* yang steril



Gambar 3.13 Preparasi gigi molar satu rahang atas (Sumber : Koleksi Pribadi)

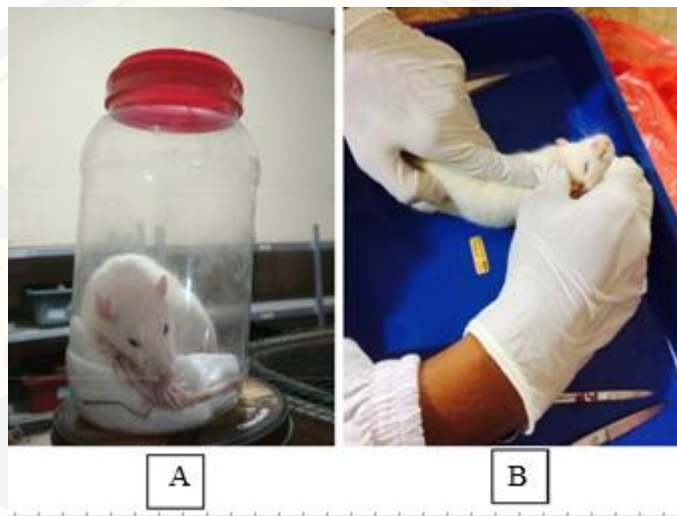
- e. Membuat kavitas klas 1 pada oklusal gigi molar 1 tikus menggunakan *round bur* no.10 diameter 1 mm (*Edenta*) sampai kedalaman **Error! Reference source not found.** 1 mm, dilanjutkan dengan membuat perforasi pada pulpa menggunakan ujung sonde.



Gambar 3.14 Sketsa potongan mesial – distal (Sumber : Koleksi Pribadi)

- f. Kavitas diirigasi dengan aquadest steril lalu dikeringkan dengan cotton pellet.
- g. Menyiapkan bahan yang akan diaplikasikan pada kavitas gigi tikus meliputi,
 1. Caviton
 2. Campuran *bioactive glass sintetis* dengan saliva buatan sebanyak 1 sendok peres GI *bioactive glass sintetis* dicampur 0,1 ml saliva buatan yang diambil menggunakan mikro pipet, kemudian diaduk diatas paper pad menggunakan *agate spatel*.
 3. Campuran *bioactive glass nano silica* dengan saliva buatan sebanyak 1 sendok peres GI *bioactive glass nano silica* dicampur 0,1 ml saliva buatan yang diambil menggunakan mikro pipet, kemudian diaduk diatas paper pad menggunakan *agate spatel*
- h. Selanjutnya dilakukan pengaplikasian bahan setiap kelompok.
 1. Kelompok kontrol : Ditumpat dengan menggunakan Caviton.
 2. Kelompok perlakuan : Aplikasi bahan *bioactive glass nano silica* sebanyak 1 *spoon excavator* dan ditumpat dengan menggunakan caviton.

- i. Tikus dikembalikan dalam kandang dan dibiarkan hingga sadar. Tikus diberi makan pelet (*turbo*) dan minum sehari 2 kali menggunakan dot yang dipasang pada kandang.
- j. Pada hari ke-14 dan 28, sebanyak 4 ekor tikus didekapitasi sesuai dengan pembagian kelompok. Dekapitasi pada tikus menggunakan overdosis kloroform secara inhalasi dan dilanjutkan dengan dislokasi servikal.



Gambar 3.15 Pembiusan tikus dengan kloroform (gambar A) dan dislokasi servikal (gambar B) (Sumber : Koleksi Pribadi)

3.7.4 Pembuatan sediaan preparat histologi

- a. Pengambilan jaringan dengan memotong rahang atas tikus bagian kiri yang telah diberi perlakuan. Jaringan dipotong dari mesial gigi Molar 1 sampai distal gigi Molar 3.



Gambar 3.16 pengambilan jaringan dengan memotong rahang atas (Sumber : Koleksi Pribadi)

- b. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10 % selama minimal 12-18 jam kemudian dilakukan dekalsifikasi dengan memakai larutan asam formiat 10 % selama 7 hari



Gambar 3.17 Jaringan difiksasi menggunakan larutan buffer formalin 10 %
(Sumber : Koleksi Pribadi)

- c. Setelah 7 hari dicek dengan menggunakan jarum pada bagian permukaan mahkota gigi untuk memastikan jaringan keras sudah melunak.
- d. Setelah itu dilakukan pemrosesan jaringan melalui beberapa tahap yaitu dehidrasi, *clearing*, *impregnasi*, *embedding*, penyayatan, dan pengecatan
- e. Dehidrasi dilakukan, dimulai dengan mencelupkan jaringan ke dalam alkohol 70 % selama 15menit, 80 % selama 1 jam, 95 % selama 2 jam, dan 100 % selama 3 jam.
- f. Kemudian, *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.
- g. Dilakukan *Impregnasi* dengan cara, jaringan dibungkus dengan kertas saring supaya *xylol* terserap kedalam kertas saring
- h. Kemudian jaringan dimasukkan ke dalam parafin dengan suhu 56- 60 °C selama 2x3 jam agar terjadi proses *infiltrasi* bahan *embedding* ke dalam jaringan.
- i. Proses selanjutnya adalah *embedding*, dilakukan penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu parafin.



Gambar 3.18 Tahap *embedding* (Sumber : Koleksi Pribadi)

- j. Setelah parafin beku dilakukan penyayatan blok paraffin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 μm . Arah pemotongan yaitu dari mesial – distal gigi molar 1 atas. Sayatan ditampung dalam *waterbath* dengan temperature tetap 56-58 $^{\circ}\text{C}$ hingga sayatan mekar.



Gambar 3.19 Penyayatan menggunakan mikrotom (Sumber : Koleksi Pribadi)

- k. Sayatan yang sudah mekar diambil dengan menggunakan kuas dan diletakkan pada *object glass* yang diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan dengan suhu 30 – 35 $^{\circ}\text{C}$ minimal selama 12 jam (Kurnia dkk., 2015).

3.7.5 Pewarnaan preparat histologi

- a. Pengecatan preparat jaringan dilakukan dengan tahapan deparafinisasi dengan preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2-3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam wadah yang berbeda selama 2-3 menit.



Gambar 3.20 Tahap deparafinisasi menggunakan *xylol* (Sumber : Koleksi Pribadi)

- b. Rehidrasi dengan alkohol 100 % dan 95 % selama 3menit.



Gambar 3.21 Rehidrasi menggunakan alcohol (Sumber : Koleksi Pribadi)

- c. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit. Preparat diwarnai dengan cara direndam dalam *Hematoxillin Mayer's* selama 15 menit
d. Bilas ulang dengan air mengalir selama 20 menit,



Gambar 3.22 Pembilasan preparat menggunakan air mengalir (Sumber : Koleksi Pribadi)

- e. Preparat direndam *eosin* selama 15 detik sampai 2 menit,

- f. Dehidrasi dengan alkohol konsentrasi meningkat 95 % dan 100 % masing masing 2-3menit sebanyak 2 kali dalam wadah yang berbeda.



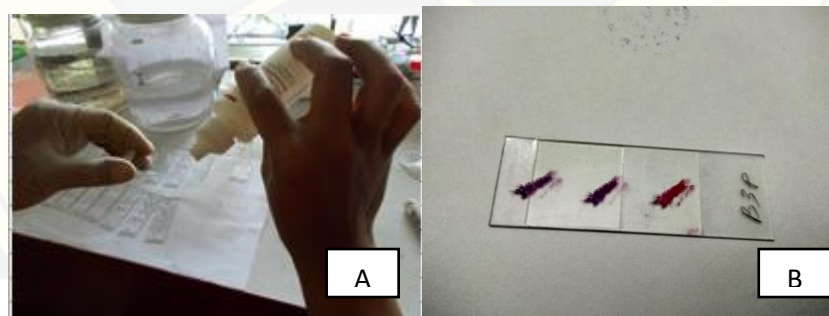
Gambar 3.23 Dehidrasi dengan alkohol (Sumber : Koleksi Pribadi)

- g. Setelah itu, preparat dimasukkan ke dalam *xylol* tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda.



Gambar 3.24 Bahan *xylol* untuk merendam preparat (Sumber : Koleksi Pribadi)

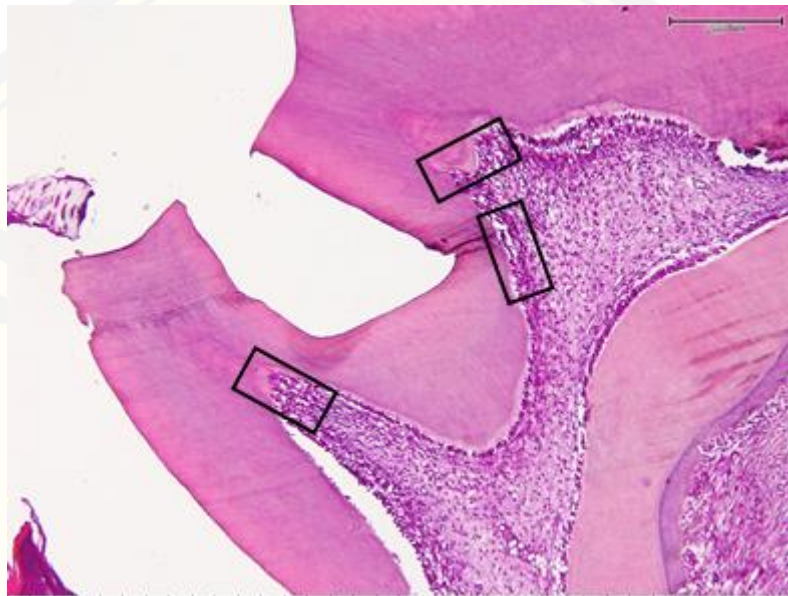
- h. *Mounting* menggunakan cairan *Entellan* lalu ditutup dengan *deck glass*.



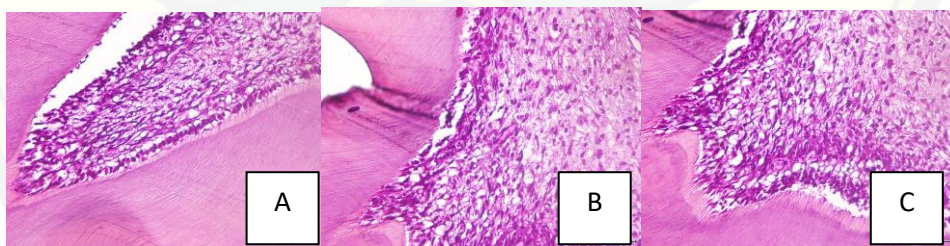
Gambar 3.25 Tahap *mounting* dengan cairan *entellan* (gambar A), Preparat yang sudah jadi (gambar B) (Sumber : Koleksi Pribadi)

3.7.6 Pengamatan sediaan preparat histologi

Pengamatan jumlah *odontoblast-like cell* dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x pada area disekitar kavitas. Setiap potongan jaringan histologis diamati dalam tiga lapang pandang yang berbeda dengan tiga orang pengamat yang berbeda, kemudian hasil pengamatan dari masing – masing pengamat diambil berdasarkan rata – rata dari jumlah sel pada ketiga lapang pandang.



Gambar 3.26 Preparat dengan perbesaran 100x (Sumber : Koleksi Pribadi)



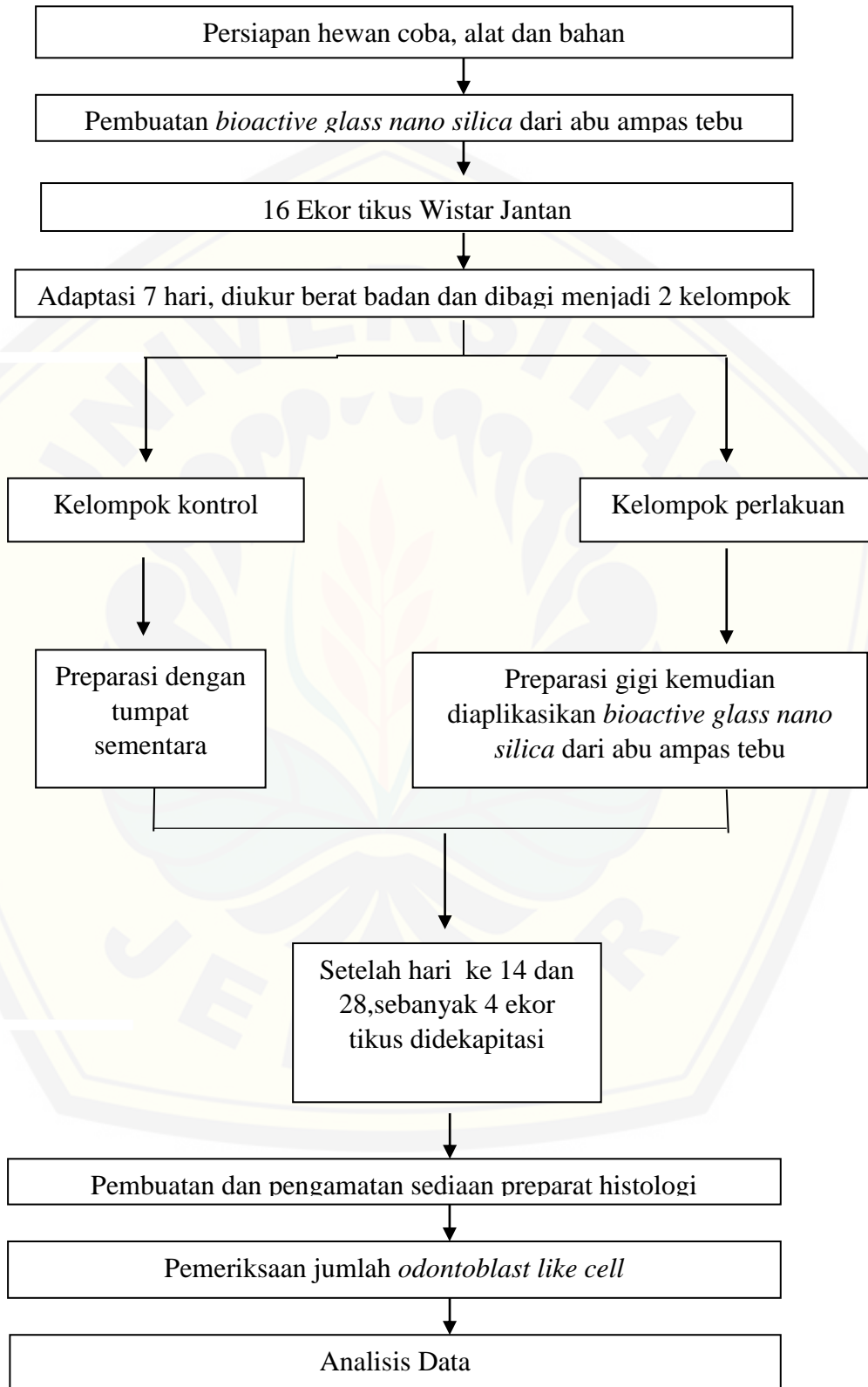
Gambar 3.27 Lapang pandang 1 (gambar A), lapang pandang 2 (gambar B), lapang pandang 3 (gambar C) (Sumber : Koleksi Pribadi)

3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *shapiro wilk* dan uji homogenitas dengan menggunakan uji *levene*. Data yang didapat terdistribusi normal, maka dilakukan uji parametrik dengan menggunakan uji *one way anova* untuk menguji perbedaan semua kelompok dan dilanjutkan dengan uji *least significance different* untuk menguji perbedaan antar kelompok.



3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.28 Bagan alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian bahan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu yang dicampur dengan saliva buatan pada pulpa dapat meningkatkan pembentukan *odontoblast-like cell*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian tentang perbandingan *odontoblast-like cell* yang terbentuk pada *bioactive glass nano silica* yang telah ada dipasaran.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang perbandingan pembentukan *odontoblast-like cell* bahan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu dengan bahan yang sudah digunakan saat ini.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu lebih mudah diaplikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, L. A., Enobong R. E., Rafiu O. S., Aderemi O. 2013. Sol – Gel Synthesis of SiO₂ – CaO – Na₂O – P₂O₅ Bioactive Glass Ceramic from Sodium Metasilicate. *New Journal of Glass and Ceramics*. Vol. 3: 11 – 15.
- Ahira, A. 2009. *Berkenalan dengan Tanaman Tebu*. www.anneahira.com/tanaman-tebu.htm [5 Agustus 2017].
- Abbasi, Z., M.E. Bahrololoom., M.H. Shariat., R. Bagheri. 2015. Bioactive Glass in Dentistry : A Review. *Journal of Dental Biomaterials*, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
- Bragmann, C.P. dan M.R.F. Goncalves. 2006. Therman Insulators Made With Rice Husk Ashes: Production and Correlation Between Properties and Microstructure. *Construction and Building Materials*. Department of materials, school of engineering, federal university of rio grande do sul, Brasil.
- Carvalho, S. M., A.R.A Oliviera., E.M.F. Lemos., M. Pereira. 2013. Bioactive Glass Nanoparticles for Periodontal Regeneration and Application in Dentistry. *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry*. Federal University of Minas Gerais.
- Chavez, V. E. A., dan Luciana F. Massa. 2004. *Odontoblast : The Cell Forming and Maintaining Dentine*. *The International Journal of Biochemistry & Biology Cell* 36 (2004) 1367 – 1373.
- Chen, Song., Y. Cai., Engqvist., W. Xia. 2016. Enhanced bioactivity of glass ionomer cement by incorporating calcium silicate. *Applied Materials Science*. *Biomatter*. Department of Engineering Science, Uppsala University, Uppsala, Sweden.
- Dwiandhono, Irfan., R. Effendy., S. Kunarti. 2016. The Thickness of Odontoblast-like cell Layer After Induced Propolis Extract and Calcium Hidroksida. *Majalah Kedokteran Gigi*. 49(1): 17 – 21
- Farooq, I., Imran Z., Farooq U., Leghari A., Ali H. 2012. Bioactive Glass : A Material for the Future. *Word Journal of Dentistry*. 3(2), 199 – 201.

- Gong, Weiyu., Z. Huang., Y. Dong., Y. Gan., S. Li., X. Gao., X. Chen. 2014. Ionic Extraction of a Novel Nano-sized Bioactive Glass Enhances Differentiation and Mineralization of Human Dental Pulp Cells. Department of Cariology and Endodontology and Central Laboratory. *Basic Research-Biology*. Peking University, Beijing, China.
- Han, W., Y. Zheng, R. Li, X. Li, Zhou, Y. Niu, dan Q. Zhang. B-Cetenin Enhances Odontoblastic Differentiation of Dental Pulp Cells through Activation of Runx2. 2014. *Plos One*. 9(2): 1-10.
- Harty. 2010. *Endodontics in Clinical Practice*. London: Churchill Livingstone ELSEVIER
- Hargreaves, K., & Goodis, H. 2002. *Seltzer and Bender's Dental Pulp Second Edition*. Quintessence Publishing Co, Inc.
- Haghgoo, R., Naderi, N. J. 2007. Comparison of Calcium Hydroxide and Bioactive Glass after Direct Pulp Capping in Primary Teeth. *Journal of Dentistry*, Tehran University of Medical Sciences. 4(4): 155-159
- Indrawanto, C., Purwono., Siswanto., M. Syakir., Widi R. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Jakarta : ESKA Media
- Jahanshahi, M., Rabiee, S. M., Ravarian, R., Nabian, N. 2009. Preparation and Characterization of Nano Bioactive Glass Based on The CaO-P₂O₅-SiO₂ System. *Global Science Books*. 3(2):61-63
- James, Glyn. 2004. *Sugarcane Second Edition*. Blackwell Publishing Company : Inggris.
- Jones, J.R. 2013. Review of Bioactive Glass : From Hench to Hybrids. *Acta Biomateriala* (9): 4457 – 4486
- Jun, Soo-Kyung., J. Lee., H. Lee. 2016. The Biomineralization of a Bioactive Glass-Incorporated Light-Curable Pulp Capping Material Using Human Dental Pulp Stem Cells. *Research Article*.
- Kristianingrum, S., Siswani, E. D., Fillaeli, A. 2011. Pengaruh Jenis Asam pada Sistesis Silika Gel dari Abu Bagasse dan Uji Sifat Adsorptifnya terhadap Ion Logam Tembaga (II). Yogyakarta: UNY

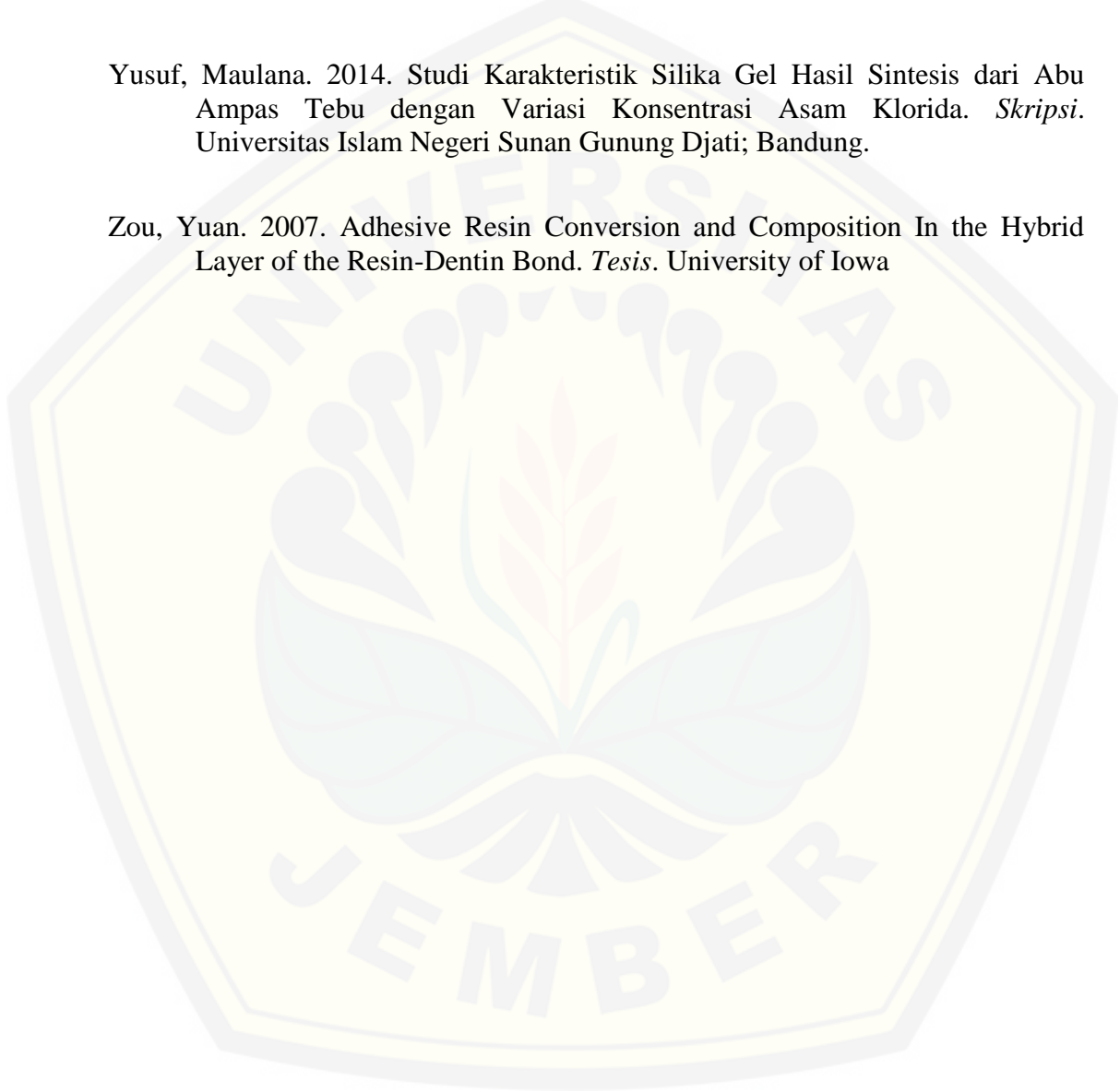
- Kurnia, Pandika Agung., H. B. Ardhiyanto., Suhartini. 2015. Potensi Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket pasca pencabutan gigi pada Tikus Wistar. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*: Vol.3 No.1
- Nofai., E. Rahman. 2017. Hubungan Pengetahuan Dan Kebiasaan Menggosok Gigi Dengan Kejadian Karies Gigi Di SDI Darul Mu'minin Kota Banjarmasin Tahun 2017. *Dinamika Kesehatan*, Vol.8 No.1
- Octiara, Essie. 2015. Dentin Reparatif dan *Growth Factor* yang Berperan dalam Dentinogenesis Reparatif. *Dentika Dental Journal*. Vol.18 No.3
- Putri, R.S., T.N. Junaidi., B.W. Wiwit. 2010. Uji Ketahanan Tanaman Tebu Hasil Persilangan (*Saccharum spp. Hybrid*) Pada kondisi Lingkungan Cekaman Garam (NaCl). *Tesis*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember; Surabaya
- Rahaman, Mohamed N., D.E. Day, B.S. Bal, Q. Fu, S.B. Jung, L.F. Bonewald, A.P. Tomsia. 2011. Department of Materials Science and Engineering, and Center for Bone and Tissue Repair and Regeneratiom. *Acta Biomaterialia*. Missouri University of Science and Technology, Rolla : Review Bioactive Glass in Tissue Engineering.
- Roberson, T. M. 2006. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. Philadelphia : Mosby Elsevier.
- Sabir, Ardo. 2003. Kaping Pulpa Langsung : Suatu Perawatan yang Bermanfaat Untuk Memelihara Vitalitas Gigi. *Journal of Dentistry*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. 36 : 104 – 109
- Sarvanapavan, Priya., R.J. Jones., Pryce, Russel., L.L. Hench. 2003. "Bioactivity of Gel-glass Powder in The CaO-SiO₂ System : A Comparison with Ternary (CaO-P₂P₅-SiO₂ and Quaternary Glasses (SiO₂-CaO-P₂P₅-Na₂O)". *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 66A (1), 110-119.
- Suhendrawati, B. Suharto., L. Dewi Susanawati. 2014. Pengaruh Konsentrasi Larutan Kalium Hidroksida pada Abu Dasar Ampas Tebu Teraktivasi. *Jurnal Sumberdaya Alam & Lingkungan*. Teknik Pertanian, Universitas Brawijaya.
- Vishwakarma, Ajaykumar., P. Sharpe., S. Shi., M. Ramalingam. 2015. *Stem Cell Biology and Tissue Engineering In Dental Sciences*. Elsevier.

Walton, R. E., Torabinejad, M. 2008. *Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsi*. Alih Bahasa: Narlan, S., Winiati, S., Bambang, N. Edisi III. Jakarta: EGC.

Wang, Sainan., X. Gao., W. Gong., Z. Zhang., X. Chen., Y. Dong. 2014. Odontogenic Differentiation and Dentin Formation of Dental Pulp Cells Under Nanobioactive Glass Induction. *Acta Biomaterialia* 10.

Yusuf, Maulana. 2014. Studi Karakteristik Silika Gel Hasil Sintesis dari Abu Ampas Tebu dengan Variasi Konsentrasi Asam Klorida. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati; Bandung.

Zou, Yuan. 2007. Adhesive Resin Conversion and Composition In the Hybrid Layer of the Resin-Dentin Bond. *Tesis*. University of Iowa



LAMPIRAN A. HASIL ANALISIS DATA

A.1 Uji Normalitas Shapiro-Wilk Perhitungan *Odontoblast-like cell***Tests of Normality**

kelompok_perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
caviton hari ke-14	,151	4	.	,993	4	,972
caviton hari ke-28	,168	4	.	,989	4	,955
powder bioactive glass hari ke-14	,226	4	.	,946	4	,691
powder bioactive glass hari ke-28	,197	4	.	,958	4	,765

a. Lilliefors Significance Correction

A.2 Uji Homogenitas Levene-Test Perhitungan *Odontoblast-like cell***Test of Homogeneity of Variances**

		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
odontoblast_like_cell	Based on Mean	1,207	3	12	,349
	Based on Median	1,145	3	12	,370
	Based on Median and with adjusted df	1,145	3	6,374	,400
	Based on trimmed mean	1,206	3	12	,350

A.3 Uji One Way Anova Perhitungan *Odontoblast-like cell***ANOVA**

odontoblast_like_cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3435,944	3	1145,315	325,557	,000
Within Groups	42,216	12	3,518		
Total	3478,160	15			

A.4 Uji LSD (Least Significant Difference) Perhitungan *Odontoblast-like cell***Multiple Comparisons**

Dependent Variable: odontoblast_like_cell

LSD

(I) kelompok _perlakuan	(J) kelompok_perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
caviton hari ke- 14	caviton hari ke-28	-22,58500*	1,32628	,000	-25,4747	-19,6953
	powder bioactive glass hari ke-14	-6,58250*	1,32628	,000	-9,4722	-3,6928
	powder bioactive glass hari ke-28	-37,75000*	1,32628	,000	-40,6397	-34,8603
caviton hari ke- 28	caviton hari ke-14	22,58500*	1,32628	,000	19,6953	25,4747
	powder bioactive glass hari ke-14	16,00250*	1,32628	,000	13,1128	18,8922
	powder bioactive glass hari ke-28	-15,16500*	1,32628	,000	-18,0547	-12,2753
powder bioactive glass hari ke-14	caviton hari ke-14	6,58250*	1,32628	,000	3,6928	9,4722
	caviton hari ke-28	-16,00250*	1,32628	,000	-18,8922	-13,1128
	powder bioactive glass hari ke-28	-31,16750*	1,32628	,000	-34,0572	-28,2778
powder bioactive glass hari ke-28	caviton hari ke-14	37,75000*	1,32628	,000	34,8603	40,6397
	caviton hari ke-28	15,16500*	1,32628	,000	12,2753	18,0547
	powder bioactive glass hari ke-14	31,16750*	1,32628	,000	28,2778	34,0572

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

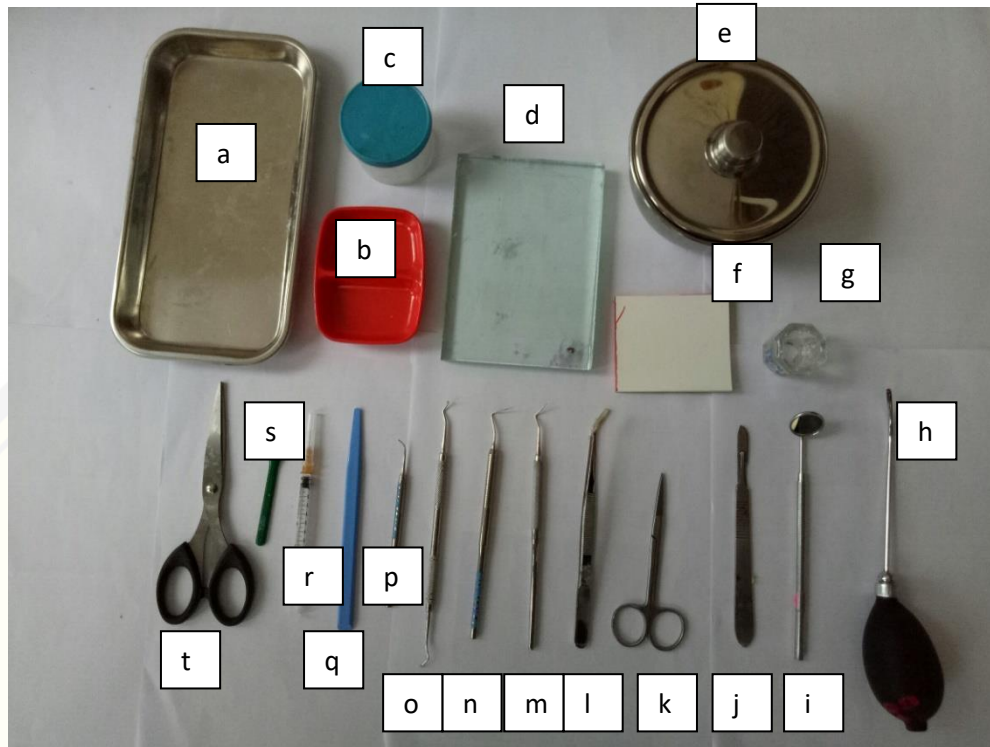
Lampiran B. Hasil Perhitungan Jumlah *Odontoblast Like Cell*

Kelompok	Hari	Tikus	Lapang pandang												Rata LP
			P1				P2				P3				
			LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	
Caviton	14	1	18	18	21	19	19	21	23	21	17	18	19	18	19.333
		2	20	21	28	23	21	20	25	22	17	18	22	19	21.333
		3	19	21	20	20	23	24	22	23	22	26	24	24	22.333
		4	22	18	20	20	24	20	22	22	22	17	18	19	20.333
	28	1	35	38	35	36	40	42	38	40	42	45	42	43	39.667
		2	40	42	41	41	47	47	50	48	41	45	43	43	44
		3	40	46	43	43	49	51	50	50	47	50	47	48	47
		4	43	43	49	45	39	38	43	40	45	41	40	42	42.333

Kelompok	Hari	Tikus	Lapang pandang												Rata LP
			P1				P2				P3				
			LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	
Powder BAG	14	1	30	27	27	28	25	27	29	27	31	29	30	30	28.333
		2	30	30	36	32	28	27	32	29	24	25	29	26	29
		3	26	30	28	28	24	28	23	25	25	30	26	27	26.667
		4	30	25	26	27	28	24	26	26	26	23	23	24	25.667
	28	1	58	60	59	59	58	62	60	60	60	63	60	61	60
		2	55	55	58	56	58	57	62	59	53	52	60	55	56.667
		3	62	55	57	58	61	57	59	59	64	58	61	61	59.333
		4	55	58	64	59	59	58	66	61	53	52	60	55	58.333

Lampiran C. Foto Alat dan Bahan Penelitian

C.1 Foto Alat Penelitian



- a. Baki stainless steel
- b. Tempat saos
- c. Tempat fiksasi jaringan
- d. Glassplate
- e. Tempat tampon
- f. Paper pad
- g. Dappen glass
- h. Chip blower
- i. Kaca mulut no. 3
- j. Scalpel dan blade
- k. Gunting kecil
- l. Pinset
- m. Sonde lurus
- n. Probe who
- o. Ekscavator
- p. Liner applicator
- q. Spatula agate
- r. Syringe 1cc
- s. Sondok GI
- t. Gunting besar



Timbangan



pH meter



Magnetic stirrer



Oven



Muffle furnace



Magnet stick



Gelas ukur

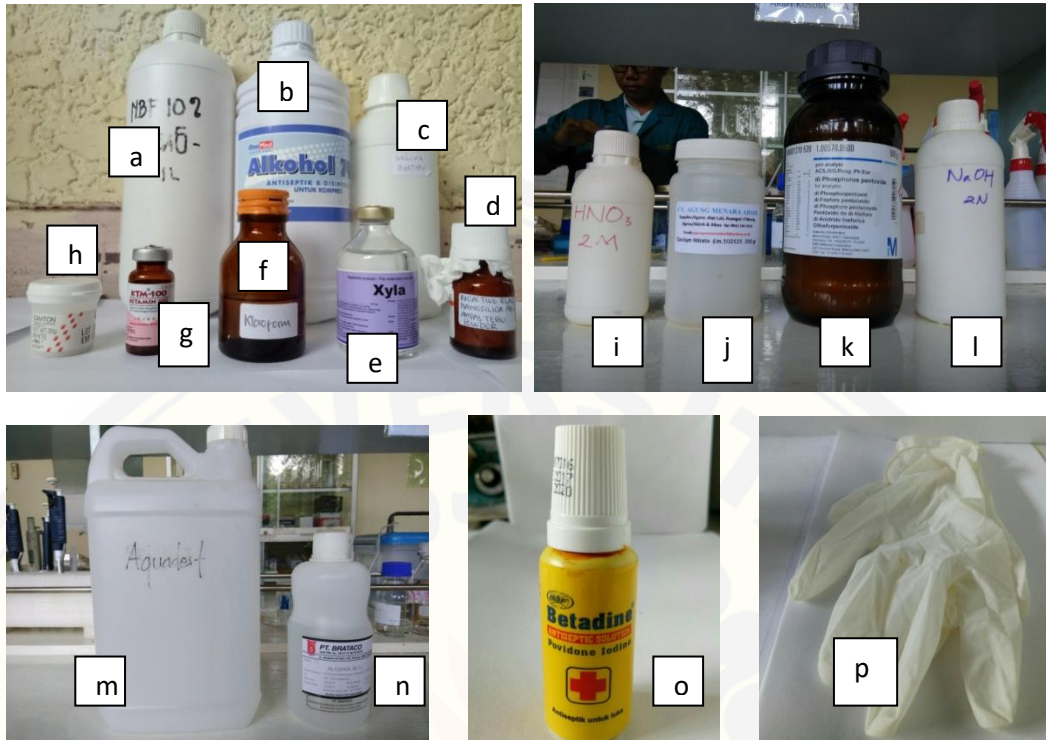


Bur low speed



Mortar dan cawan

C.2 Foto Bahan Penelitian

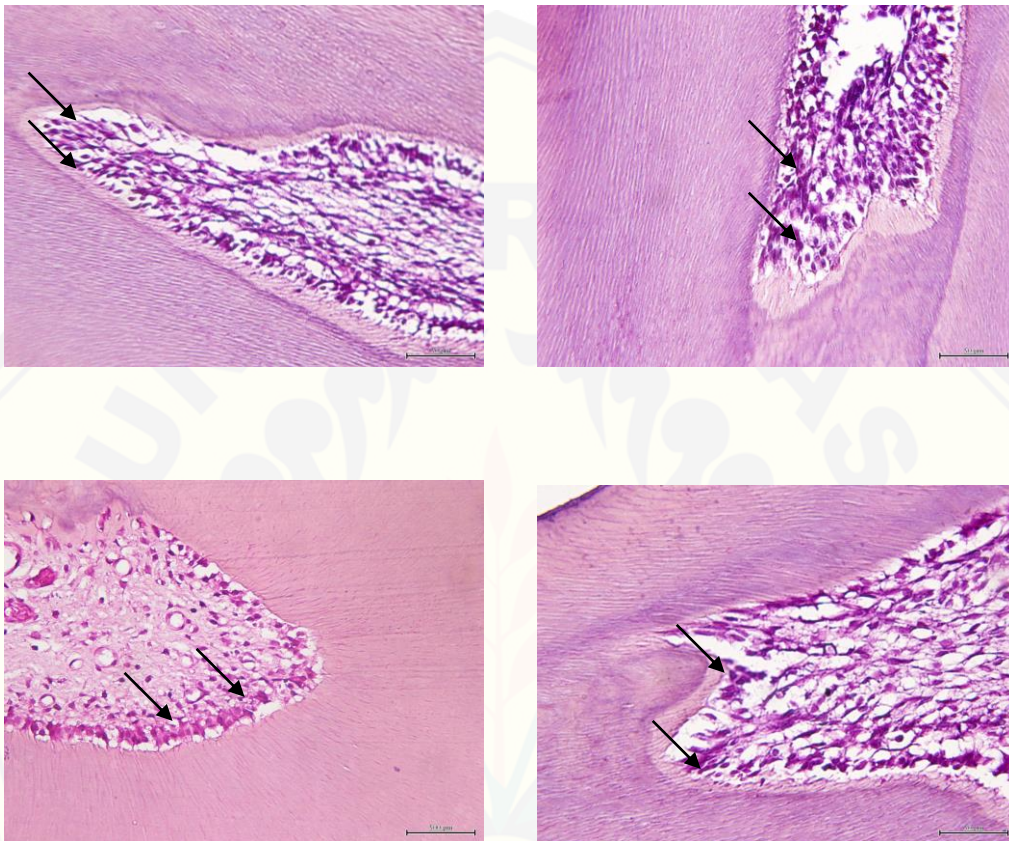


Keterangan gambar :

- a. NBF 10 %
- b. Alkohol 70 %
- c. Saliva buatan
- d. Powder bioactive glass nano silica abu ampas tebu
- e. Xylasin
- f. Kloroform
- g. Ketamin
- h. Caviton
- i. HNO_3 2 M
- j. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- k. P_2O_5
- l. NaOH
- m. Aquadest
- n. Alkohol 50%
- o. Betadine
- p. Handscoon

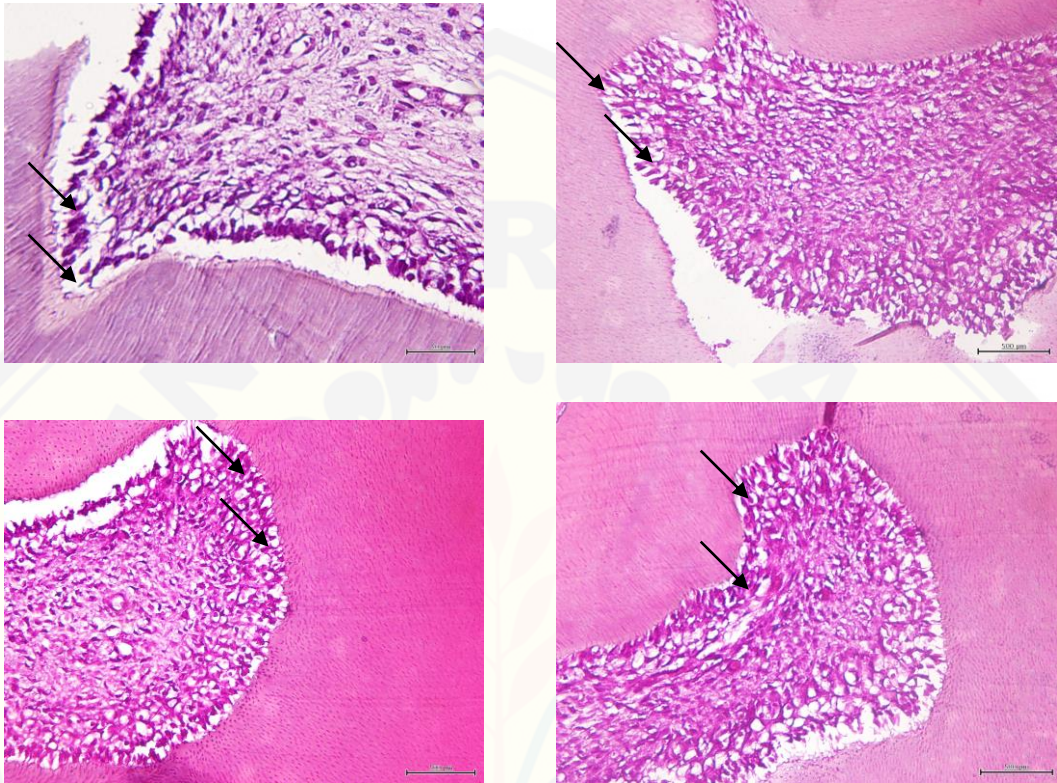
LAMPIRAN D. Hasil Gambar Preparat Histologi

D.1 Kelompok Sampel yang Hanya Ditumpat Sementara dengan Caviton Selama 14 Hari



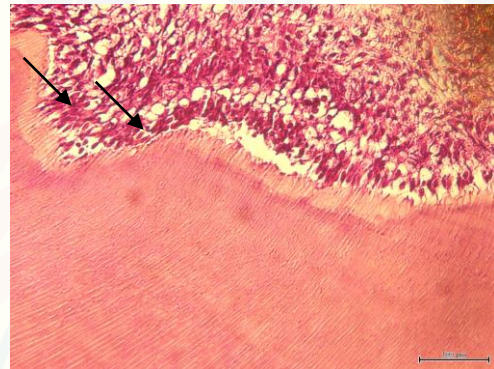
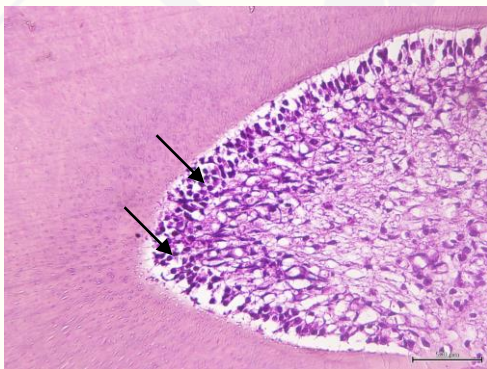
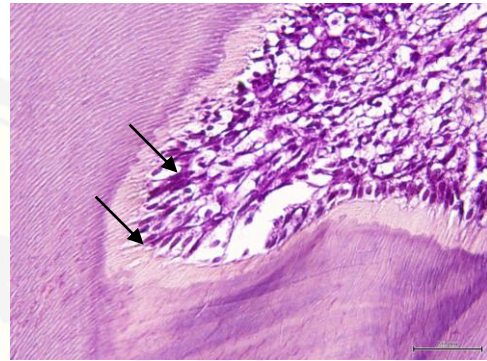
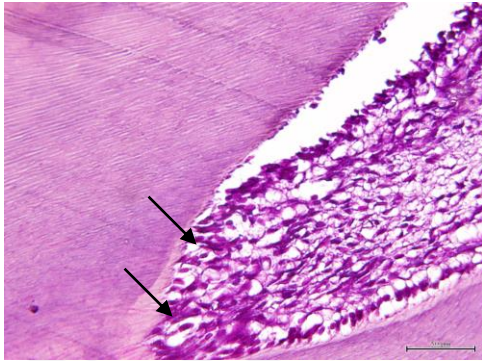
Keterangan → : *Odontoblast-like cell* pada perbesaran 400x

D.2 Kelompok Sampel yang Dipapar *Bioactive Glass Nano Silica* dari Abu Ampas Tebu Selama 14 Hari



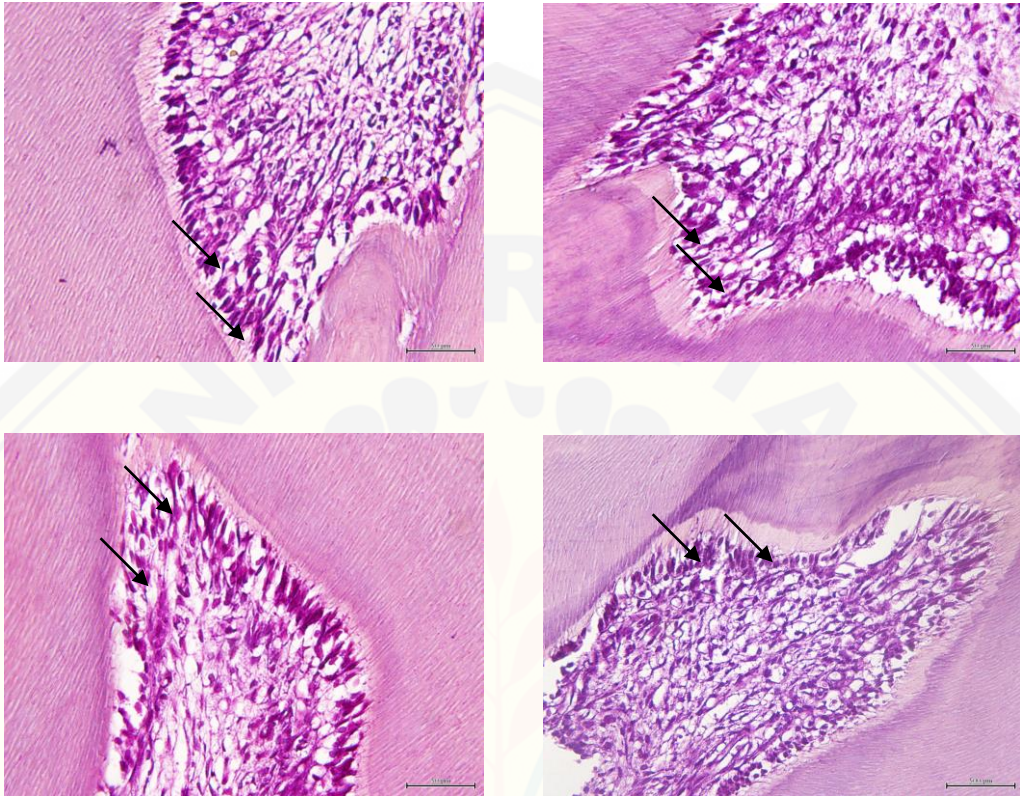
Keterangan → : *Odontoblast-like cell* pada perbesaran 400x

D.3 Kelompok Sampel yang Hanya Ditumpat Sementara dengan Caviton Selama 28 Hari



Keterangan → : *Odontoblast-like cell* pada perbesaran 400x

D.4 Kelompok Sampel yang Dipapar *Bioactive Glass Nano Silica* dari Abu Ampas Tebu Selama 28 Hari



Keterangan → : *Odontoblast-like cell* pada perbesaran 400x

LAMPIRAN E. Hasil Identifikasi Tanaman Tebu



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 1618 /IPH.06/HM/XI/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Darmawan Dwi W.
NIM : 141610101082
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Tanggal material diterima : 27, Oktober 20017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Liliopsida
Subclass : Commelinidae
Ordo : Cyperaceae
Family : Poaceae
Genus : Saccharum
Species : *Saccharum officinarum* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1968. Flora of Java Vol.III. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 585
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVIII
3. Flach M, and F. Rumawas tahun 1996 PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 9; Yielding non- seed carbohydrates Hal.143

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 4 Nopember 2017



Sugeng Budiharta, M.Sc, Ph.D

LAMPIRAN F. Surat Izin Pembuatan Preparat Histologi



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

Nomor : 4803 /UN25.8.TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Patologi Anatomi
Universitas Brawijaya
Di
Malang

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

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Darmawan Dwi W |
| 2 | NIM | : 141610101082 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip II No.10 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Pembentukan Odontoblast Like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Mikrotom, pinset, scalpel, parafin blok, dll |
| 9 | Waktu | : Nopember 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Analisis Pembentukan Odontoblast Like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes
2. drg. Sri Lestari, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Drg. dda Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001

LAMPIRAN G. Surat Izin Pembuatan *Bioactive Glass*

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

Nomor : 0463 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian


02 FEB 2018

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Biosains
Politeknik Negeri Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|------------------------------|---|
| 1 | Nama | : Darmawan Dwi Wijayanto |
| 2 | NIM | : 141610101082 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip II No.10 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Pembentukan Odontoblast Like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nano Silica Dari Abu Ampas Tebu |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboraturium Biosains Politeknik Negeri Jember |
| 8 | <u>Data/Alat yg dipinjam</u> | : Furnace, oven, timbangan, gelas ukur, dll |
| 9 | Waktu | : Nopember 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Pembentukan Odontoblast Like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nano Silica Dari Abu Ampas Tebu |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes
2. drg. Sri Lestari, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,

Drs drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



LAMPIRAN H. Surat Izin Perlakuan Hewan Coba



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

Nomor : 0463 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

02 FEB 2018

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Farmasetika
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|------------------------------|---|
| 1 | Nama | : Darmawan Dwi Wijayanto |
| 2 | NIM | : 141610101082 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip II No.10 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Pembentukan Odontoblast Like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nano Silica Dari Abu Ampas Tebu |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | <u>Data/Alat yg dipinjam</u> | : Mortar, pastel, dll |
| 9 | Waktu | : Nopember 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Pembentukan Odontoblast Like Cell Pada Pulpa Setelah Pemberian Bioactive Glass Nano Silica Dari Abu Ampas Tebu |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes
2. drg. Sri Lestari, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP.196409031986022001