



**PENGARUH GEL *BIOACTIVE GLASS NANOSILICA* ABU  
AMPAS TEBU TERHADAP JUMLAH SEL NEUTROFIL  
PULPA TIKUS WISTAR JANTAN**

**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**

**Rusella Try Setyawaty**

**NIM 141610101007**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**PENGARUH GEL *BIOACTIVE GLASS NANOSILICA* ABU  
AMPAS TEBU TERHADAP JUMLAH SEL NEUTROFIL  
PULPA TIKUS WISTAR JANTAN**

**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**

**Rusella Try Setyawaty**

**NIM 141610101007**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

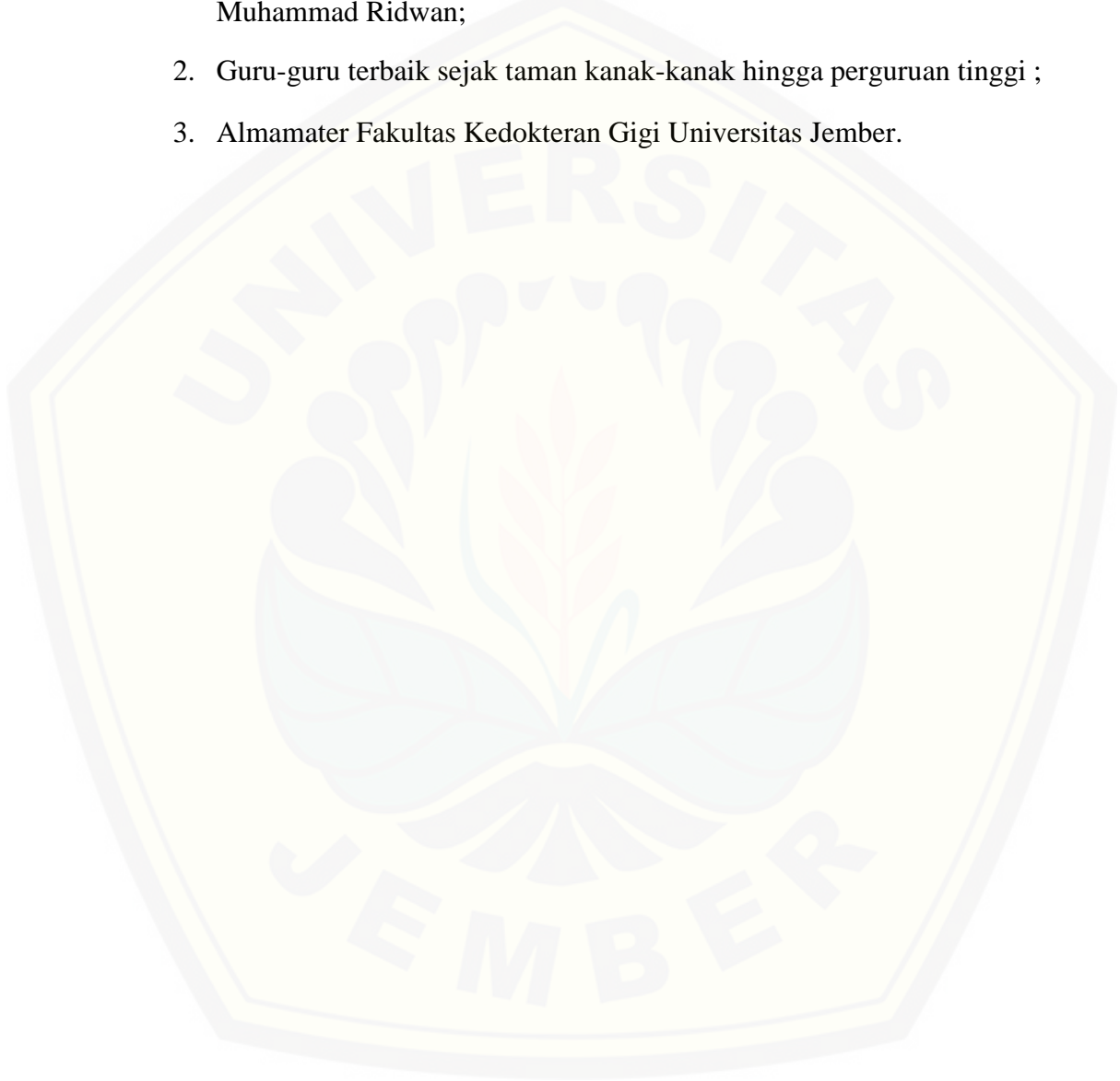
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayah tercinta Muallip, ibunda tersayang Soemiati dan adik terkasih Muhammad Ridwan;
2. Guru-guru terbaik sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi ;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



**MOTTO**

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.\*



\*)QS. Al-Insyirah : 5-6

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rusella Try Setyawaty

NIM : 141610101007

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Gel *Bioactive Glass Nanosilica* Abu Ampas Tebu terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, 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, 14 Maret 2018

Yang menyatakan,

Rusella Try Setyawaty

NIM 141610101007

**SKRIPSI**

**PENGARUH GEL *BIOACTIVE GLASS NANOSILICA* ABU AMPAS  
TEBU TERHADAP JUMLAH SEL NEUTROFIL PULPA TIKUS  
WISTAR JANTAN**

Oleh:

Rusella Try Setyawaty

NIM 141610101007

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Gel *Bioactive Glass Nanosilica* Abu Ampas Tebu terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : 14 Maret 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

**Tim Penguji:**

Penguji Ketua

Penguji Anggota

drg. Dwi Warna Aju F., M.Kes

NIP 197012191999032001

drg. Lusi Hidayati, M.Kes.

NIP 197404152005012002

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Izzata Barid, M.Kes.

NIP 196805171997022001

drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D.

NIP 195606121983031002

Mengesahkan,

Dekan,

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

NIP 196901121996011001

## RINGKASAN

**Pengaruh Gel *Bioactive Glass Nanosilica* Abu Ampas Tebu terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan;** Rusella Try Setyawaty, 141610101007, 2018: 68 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Neutrofil adalah jenis fagosit yang menelan dan mencerna bakteri. Neutrofil dirangsang oleh TNF- $\alpha$  untuk bergerak menuju lokasi infeksi lalu melakukan fagositosis terhadap bakteri. Neutrofil dapat menghasilkan protease dan ROS untuk membunuh bakteri patogen dengan cepat namun pelepasan molekul toksik ini juga dapat menghancurkan jaringan di sekitarnya. Salah satu upaya untuk melindungi jaringan pulpa dari cedera yang dapat mengakibatkan kerusakan jaringan yaitu dengan pembentukan dentin tersier. *Bioactive glass* adalah bahan yang dapat memunculkan respon biologis tertentu pada suatu jaringan yang akan menghasilkan ikatan antara jaringan dan bahan tersebut. *Bioactive glass* memiliki fungsi bermacam-macam, antara lain mampu merangsang pembentukan HCA dan mencegah peningkatan respon inflamasi. *Bioactive glass* umumnya memiliki sediaan berbentuk *powder* yang memiliki kelarutan tinggi jika digunakan sebagai bahan restorasi. Kelarutan yang tinggi ini diatasi dengan penambahan bahan basis gel *sodium-carboxy methyl cellulose* (CMC-Na). Tebu (*Saccharum officinarum*) adalah salah satu tanaman yang mudah tumbuh di Indonesia. Abu ampas tebu memiliki kandungan silika sebesar 70% sehingga dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan *bioactive glass*. Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu terhadap jumlah sel neutrofil pulpa tikus wistar jantan.

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Enam belas ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok kemudian gigi molar satu rahang atas kiri dipreparasi sedalam 1 mm lalu diperforasikan sebesar seujung sonde. Pada kelompok kontrol, gigi tikus yang telah dipreparasi dilalukan penempatan



sementara. Kelompok perlakuan diaplikasikan selapis gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu lalu ditumpat sementara. Pada hari ke-3 dan ke-7 setelah perawatan, 4 ekor tikus pada masing-masing kelompok didekapitasi. Jaringan diproses, diwarnai Hematoksilin-Eosin dan diamati sel neutrofil menggunakan mikroskop binokuler perbesaran 400x dan dihitung oleh 3 pengamat lalu diambil reratanya.

Data hasil penelitian disajikan dalam rerata jumlah sel neutrofil lalu diuji normalitas menggunakan *Saphiro-Wilk* dan didapatkan data terdistribusi normal lalu uji homogenitas menggunakan *Levene test* dan menunjukkan data yang terdistribusi homogen. Data lalu dilakukan uji parametrik *One-way ANOVA* dengan hasil terdapat perbedaan yang signifikan (0,000) sehingga dilanjutkan uji *Least Significant Difference (LSD)*. Hasil uji LSD didapatkan bahwa pada kelompok kontrol hari ke-3 dan ke-7 tidak terdapat beda signifikan sedangkan pada kelompok perlakuan pada hari ke-3 dan ke-7 terdapat beda yang signifikan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu signifikan dalam menurunkan jumlah sel neutrofil dibandingkan dengan kelompok kontrol.

## PRAKATA

Alhamdulillah wa syukurillah, puji syukur kepada Allah SWT atas karunia, rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Gel *Bioactive Glass Nanosilica* Abu Ampas Tebu terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan;”, sebagai salah satu persyaratan penyelesaian program sarjana (S1) Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih pada:

1. Allah SWT atas izin-Nya saya menyelesaikan skripsi ini;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Izzata Barid, M.Kes selaku dosen pembimbing utama dan drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D. dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing saya menyusun skripsi;
4. drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes selaku dosen penguji ketua dan drg. Lusi Hidayati, M.Kes. selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan masukan dan saran yang membangun dalam penulisan tugas akhir ini;
5. Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. Ayah Muallip yang terhebat dan telah mendukung saya sepenuhnya, ibu Soemiati yang tidak henti mendoakan dan menemani saya, adik Muhammad Ridwan yang saya sayangi;
7. Teman-teman abu bagasse Wawan, Yuniko, Erfika, Umil, Irsa, Nanik dan Lady yang selalu memberikan semangat satu sama lain;
8. Sahabat nim Dempet Arie, Nabilah, Lady, Nanik, Umil, Erfika, Shinta, Dini, Irsa yang selalu ada sejak awal masuk FKG;
9. Sahabat yang jarang berjumpa tetapi selalu ada Azzima Luthfia;
10. Sahabat yang tak hentinya mengingatkan saya Lintang, Yunita, Anindhita, Hanifah, Janaloka, Nadia;
11. Sahabat Kos Dal yang selalu mendukung Mbak Tutut, Mbak Chandra, Tiwi;

12. Sahabat Kos BQ yang selalu ada Shinta, Dini, Zulfah, Dinda, Arie, Azza, Egi, Fitrotul, Ade;
13. Teman-teman FKG 2014 atas bantuan, kerjasama dan kebersamaannya selama ini;
14. Mas Taufan, Mbak Dini, Pak Mijan yang telah membantu dalam penelitian saya.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pendidikan dan kesehatan. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

DAFTAR ISI

|   |           |
|---|-----------|
| HALAMAN JUDUL .....                                       | i         |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....                                 | ii        |
| HALAMAN MOTTO .....                                       | 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.....                                      | xvii      |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>                           | <b>1</b>  |
| <b>1.1 Latar Belakang .....</b>                           | <b>1</b>  |
| <b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>                          | <b>3</b>  |
| <b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>                         | <b>4</b>  |
| <b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>                       | <b>4</b>  |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                       | <b>5</b>  |
| <b>2.1 Pulpa Gigi .....</b>                               | <b>5</b>  |
| <b>2.2 Penyakit Pulpa.....</b>                            | <b>5</b>  |
| <b>2.3 Sel Neutrofil .....</b>                            | <b>6</b>  |
| <b>2.4 Bioactive Glass.....</b>                           | <b>8</b>  |
| 2.4.1 Pengertian <i>Bioactive Glass</i> .....             | 8         |
| 2.4.2 <i>Bioactive Glass Silica</i> .....                 | 9         |
| 2.4.3 <i>Bioactive Glass</i> sebagai Anti-inflamasi ..... | 10        |
| <b>2.5 Tanaman Tebu.....</b>                              | <b>10</b> |
| 2.5.1 Deskripsi Tanaman Tebu .....                        | 11        |
| 2.5.2 Ampas Tebu.....                                     | 12        |
| <b>2.6 Carboxymethylcellulose Sodium (CMC-Na) .....</b>   | <b>13</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.7 Kerangka Konsep .....                                   | 14        |
| 2.8 Hipotesis Penelitian .....                              | 15        |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....                       | <b>16</b> |
| 3.1 Rancangan Penelitian .....                              | 16        |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....                       | 16        |
| 3.3 Variabel Penelitian .....                               | 16        |
| 3.3.1 Variabel Bebas .....                                  | 16        |
| 3.3.2 Variabel Terikat .....                                | 17        |
| 3.3.3 Variabel Terkendali .....                             | 17        |
| 3.4 Definisi Operasional .....                              | 17        |
| 3.4.1 Abu Ampas Tebu .....                                  | 17        |
| 3.4.2 Gel <i>Bioactive Glass Nanosilica</i> .....           | 17        |
| 3.4.3 Sel Neutrofil .....                                   | 17        |
| 3.5 Sampel Penelitian .....                                 | 18        |
| 3.5.1 Populasi Sampel .....                                 | 18        |
| 3.5.2 Kriteria Sampel .....                                 | 18        |
| 3.5.3 Pengelompokan Sampel Penelitian .....                 | 18        |
| 3.5.4 Jumlah Sampel .....                                   | 19        |
| 3.6 Alat dan Bahan Penelitian .....                         | 19        |
| 3.6.1 Alat Penelitian .....                                 | 20        |
| 3.6.2 Bahan Penelitian .....                                | 21        |
| 3.7 Prosedur Penelitian .....                               | 21        |
| 3.7.1 Persiapan surat identifikasi tanaman .....            | 21        |
| 3.7.2 Persiapan <i>ethical clearance</i> .....              | 22        |
| 3.7.3 Pembuatan <i>Bioactive Glass Nanosilica</i> .....     | 22        |
| 3.7.4 Pembuatan Gel <i>Bioactive Glass Nanosilica</i> ..... | 26        |
| 3.7.5 Adaptasi Tikus .....                                  | 28        |
| 3.7.6 Tahap Perlakuan .....                                 | 28        |
| 3.7.7 Dekapitasi Hewan Coba .....                           | 30        |
| 3.7.8 Fiksasi Jaringan .....                                | 31        |
| 3.7.9 Dekalsifikasi Jaringan .....                          | 31        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.7.10 Pewarnaan Hematoksilin-Eosin.....            | 33        |
| 3.7.11 Tahap Pengamatan.....                        | 35        |
| <b>3.8 Analisis Data .....</b>                      | <b>35</b> |
| <b>3.9 Alur Penelitian.....</b>                     | <b>36</b> |
| <b>BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b> | <b>37</b> |
| 4.1. Hasil Penelitian.....                          | 37        |
| 4.2 Analisis Data .....                             | 40        |
| 4.3 Pembahasan .....                                | 41        |
| <b>BAB 5. PENUTUP .....</b>                         | <b>45</b> |
| 5.1 Kesimpulan.....                                 | 45        |
| 5.2 Saran .....                                     | 45        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                         | <b>46</b> |

**DAFTAR TABEL**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabel 4.1</b> Rerata Jumlah Sel Neutrofil .....             | 37 |
| <b>Tabel 4.2</b> Ringkasan Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD ..... | 41 |



**DAFTAR GAMBAR**

|   |    |
|---|----|
| Gambar 2.1 Sel Neutrofil .....  | 7  |
| Gambar 2.2 Mekanisme Pertahanan Sel Neutrofil.....                      | 8  |
| Gambar 2.3 Tanaman Tebu.....  | 10 |
| Gambar 2.4 Limbah Ampas Tebu .....                                      | 13 |
| Gambar 2.5 Bagan Kerangka Konsep .....                                  | 14 |
| Gambar 3.1 Proses pembakaran ampas tebu dengan api .....                | 22 |
| Gambar 3.2 Proses pengeringan ampas tebu dengan <i>furnace</i> .....    | 22 |
| Gambar 3.3 Pengayakan abu ampas tebu.....                               | 23 |
| Gambar 3.4 Pengadukan abu ampas tebu dengan larutan HCl .....           | 23 |
| Gambar 3.5 Penyaringan campuran abu ampas tebu dengan larutan HCl ..... | 23 |
| Gambar 3.6 Pengeringan menggunakan oven.....                            | 24 |
| Gambar 3.7 Penimbangan abu ampas tebu dan pengadukan campuran .....     | 24 |
| Gambar 3.8 Natrium silikat kering .....                                 | 25 |
| Gambar 3.9 Hasil campuran abu ampas tebu yang siap dikeringkan .....    | 26 |
| Gambar 3.10 Hasil akhir <i>powder bioactive glass</i> .....             | 26 |
| Gambar 3.11 Penimbangan bubuk CMC-Na .....                              | 26 |
| Gambar 3.12 Pengadukan serbuk CMC-Na dengan akuades .....               | 27 |
| Gambar 3.13 Penimbangan <i>powder bioactive glass</i> .....             | 27 |
| Gambar 3.14 Penambahan <i>bioactive glass</i> ke dalam basis gel .....  | 27 |
| Gambar 3.15 Pengadukan campuran hingga menjadi gel BAG .....            | 28 |
| Gambar 3.16 Adaptasi tikus .....  | 28 |
| Gambar 3.17 Anestesi tikus dengan difiksasi .....                       | 29 |
| Gambar 3.18 Tikus yang teranestesi diposisikan terlentang.....          | 29 |



|   |    |
|---|----|
| Gambar 3.19 Tahap preparasi gigi molar satu rahang atas .....           | 29 |
| Gambar 3.20 <i>Euthanasia</i> hewan coba.....                           | 30 |
| Gambar 3.21 Pemisahan rahang atas tikus.....                            | 31 |
| Gambar 3.22 Jaringan yang telah difiksasi .....                         | 31 |
| Gambar 3.23 Jaringan dimasukkan dalam oven .....                        | 32 |
| Gambar 3.24 Tahap <i>embedding</i> .....                                | 32 |
| Gambar 3.25 Penyayatan menggunakan mikrotom .....                       | 33 |
| Gambar 3.26 Pengambilan sayatan menggunakan <i>object glass</i> .....   | 33 |
| Gambar 3.27 Tahap deparafinisasi menggunakan <i>xylol</i> .....         | 33 |
| Gambar 3.28 Tahap rehidrasi menggunakan alkohol .....                   | 34 |
| Gambar 3.29 Pembilasan preparat menggunakan air mengalir .....          | 34 |
| Gambar 3.30 Bahan alkohol untuk dehidrasi preparat.....                 | 34 |
| Gambar 3.31 Bahan <i>xylol</i> untuk merendam preparat.....             | 35 |
| Gambar 3.31 Tahap <i>mounting</i> dengan cairan <i>entellan</i> .....   | 35 |
| Gambar 3.32. Cara penghitungan sel neutrofil .....                      | 35 |
| Gambar 3.33 Bagan alur penelitian.....                                  | 36 |
| Gambar 4.1 Perbandingan rerata jumlah sel neutrofil .....               | 38 |
| Gambar 4.2 Gambaran histologis kelompok kontrol pada hari ke-3 .....    | 38 |
| Gambar 4.3 Gambaran histologis kelompok kontrol pada hari ke-7 .....    | 39 |
| Gambar 4.4. Gambaran histologis kelompok perlakuan pada hari ke-3 ..... | 39 |
| Gambar 4.5 Gambaran histologis kelompok perlakuan pada hari ke-7 .....  | 40 |

**DAFTAR LAMPIRAN**

|   |    |
|---|----|
| Lampiran A: Hasil Perhitungan Jumlah Sel Neutrofil .....      | 51 |
| Lampiran B: Hasil Uji Analisis Data .....                     | 54 |
| Lampiran C: Foto Alat dan Bahan Penelitian .....              | 56 |
| LampiranD: Hasil Gambar Preparat Histologi.....               | 60 |
| Lampiran E: Surat Identifikasi Tanaman .....                  | 63 |
| Lampiran G: Surat Ijin <i>Ethical Clearance</i> .....         | 64 |
| Lampiran F: Surat Ijin Pembuatan Preparat Histologi.....      | 65 |
| Lampiran H: Surat Ijin Pembuatan <i>Bioactive Glass</i> ..... | 66 |
| Lampiran I: Surat Ijin Pembuatan Gel .....                    | 67 |
| Lampiran j: Surat Ijin Perlakuan Hewan Coba .....             | 68 |

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pulpa merupakan jaringan vital gigi yang dilindungi lapisan keras yang terdiri dari dentin, enamel dan sementum. Lapisan ini memberikan dukungan mekanis yang kuat dan perlindungan dari mikroba rongga mulut. Namun apabila dentin, enamel dan sementum kehilangan integritas strukturalnya, jaringan pulpa gigi dapat terancam. Adanya jejas yang mengenai gigi dapat menjadi jalan masuk mikroorganisme ke dalam pulpa. Masalah ini akan merangsang terjadinya inflamasi pada pulpa (Abbott dan Yu, 2007).

Pulpa yang terkena jejas akan memicu pelepasan mediator nonspesifik seperti histamin, bradikinin dan metabolit asam arakidonat sebagai tanda adanya kerusakan dan kematian sel (Price dan Lorraine, 2006). Bakteri yang masuk akan dimusnahkan oleh sel neutrofil sebagai mekanisme pertahanan nonspesifik. Neutrofil dirangsang ke daerah inflamasi oleh produk bakteri dan sitokin-sitokin. Salah satu sitokin proinflamasi yang merangsang migrasi neutrofil adalah *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) (Wright dkk., 2010). Neutrofil yang terekrut akan memulai *debridement* jaringan yang mati dan memfagositosis sel-sel patogen, proses ini membutuhkan berbagai macam senyawa antimikroba seperti *reactive oxygen species* (ROS), peptida kation, dan enzim protease (Eming dkk., 2007).

Respon inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan. Neutrofil dapat menghasilkan enzim protease dalam proses eliminasi sel-sel patogen. Enzim protease merupakan molekul yang dapat merusak jaringan sehat dengan cara memecah ikatan protein dalam jaringan. Neutrofil juga menghasilkan ROS untuk mengeliminasi jejas dengan cepat namun enzim dan molekul toksik ini dapat merusak jaringan sehat setelah pelepasannya dari neutrofil. ROS dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang dapat berujung pada kematian sel (Wright dkk., 2010).

Salah satu upaya untuk melindungi jaringan pulpa dari cedera yang dapat mengakibatkan kerusakan jaringan yaitu dengan pembentukan dentin tersier. Dentin tersier dibentuk oleh odontoblas sebagai respon atas cedera, yaitu adanya

karies, atrisi, trauma atau prosedur restoratif. Dentin tersier yang terbentuk akibat cedera ini memiliki kandungan mineral yang kurang, jumlah tubuli dentin yang sedikit dan tidak teratur jika dibandingkan dengan dentin primer dan dentin sekunder (Walton dan Torabinejad, 2008). Bahan yang biasa digunakan untuk merangsang pembentukan dentin tersier adalah kalsium hidroksida. Kalsium hidroksida memiliki kemampuan untuk membentuk jembatan dentin dan bersifat antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Luthfiyah dkk. (2016) menyebutkan bahwa kalsium hidroksida dapat menekan respon inflamasi yang berlebihan dengan menurunkan jumlah sel neutrofil pada pulpa tikus wistar jantan. Haghgoo dan Naderi (2007) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa kalsium hidroksida juga dapat menimbulkan abses pada gigi dan aksi kaustik yang berkaitan dengan pH-nya yang tinggi sehingga dapat menimbulkan nekrosis.

*Bioactive glass* merupakan bahan yang dapat memunculkan respon biologis tertentu pada suatu jaringan yang akan menghasilkan ikatan antara jaringan dan bahan tersebut. *Bioactive glass* memiliki sifat antibakteri dan mencegah peningkatan respon inflamasi dengan menekan produksi TNF- $\alpha$  (Haghgoo dan Naderi, 2007; Greenspan dkk., 2003). Efek dari gel BAG ini dikaitkan dengan kandungan Zn yang diperoleh dari ampas tebu (Hoppe dkk., 2011). Dengan dihambatnya produksi TNF- $\alpha$  akan menurunkan permeabilitas dinding pembuluh darah sehingga ekstravasasi sel neutrofil ke jaringan akan menurun dan menyebabkan inflamasi akan berkurang (Kusumastuti dkk., 2014)

Adanya kontak sel tubuh dengan bahan *bioactive glass* dapat menginduksi pembentukan *hydroxycarbonate apatite* (HCA) sebagai cikal bakal *hydroxyapatite* (HA) yang merupakan komponen anorganik utama penyusun dentin tersier. Hal ini dapat terjadi karena *bioactive glass* memiliki partikel berukuran nano sehingga luas permukaannya juga semakin besar. Luas permukaan yang semakin besar akan membuat partikel yang berkontak semakin banyak menyebabkan ion yang larut semakin banyak. Banyaknya ion yang terlarut ini dapat mempercepat pembentukan HCA yang dapat terbentuk kurang dari 2 jam setelah *bioactive glass nanosilica* berkontak dengan cairan tubuh. (Haghgoo dan Naderi, 2007; Hench dkk, 1981; Farooq dkk., 2012).

*Bioactive glass* umumnya memiliki sediaan berbentuk *powder* (Hench, 1981). Penelitian Mabrouk (2012) menyebutkan bahwa bahan *bioactive glass* memiliki kelarutan yang tinggi jika digunakan sebagai bahan restorasi. Kelarutan yang tinggi ini dapat diatasi dengan penambahan bahan lain untuk mendukung *bioactive glass* agar tidak mudah larut, yaitu dengan basis gel *sodium-carboxy methyl cellulose* (CMC-Na). Sediaan gel ini mempunyai beberapa keunggulan diantaranya memiliki kemampuan pelepasan obat yang baik, viskositas dan daya lekat tinggi, mudah dibersihkan dengan air dan tidak lengket (Ansel, 2008; Sharma, 2008).

Produksi tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) di Indonesia pada tahun 2014 mencapai 2.579.173 ton (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2015). Dari satu pabrik penghasil gula dihasilkan ampas tebu sekitar 35– 40% dari berat tebu yang digiling (Indriani dan Sumiarsih, 1992). Pabrik gula memanfaatkan ampas tebu sebanyak 60% sebagai bahan bakar, bahan baku pembuatan kertas, bahan baku industri kanvas rem, dan lain-lain. Ampas tebu sebanyak 45% belum dimanfaatkan (Husin, 2007). Abu ampas tebu memiliki kandungan silika sebesar 70% sehingga dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan *bioactive glass* (Kristianingrum, dkk., 2011).

Pemanfaatan silika dari ampas tebu sebagai bahan *bioactive glass* memiliki kelebihan yaitu memiliki nilai ekonomis yang tinggi (Rompas dkk., 2015). Penelitian yang dilakukan Kinasih (2016) menyebutkan bahwa *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu dapat digunakan untuk meminimalkan kebocoran tepi pada semen ionomer kaca. Saat ini belum terdapat penelitian lebih jauh mengenai pengaruh abu ampas tebu sebagai bahan *bioactive glass* terhadap jumlah sel neutrofil pulpa sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu terhadap jumlah sel neutrofil pulpa tikus wistar jantan.

## 1.2. Rumusan Masalah

Apakah gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu dapat mempengaruhi jumlah sel neutrofil pulpa tikus wistar jantan?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu terhadap jumlah sel neutrofil pulpa tikus wistar jantan.

### 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menmemberikan informasi mengenai pengaruh bahan gel *bioactive glass nanosilica* terhadap perubahan jumlah sel neutrofil pulpa tikus wistar jantan.
2. Mengurangi limbah abu ampas tebu yang kurang dimanfaatkan secara maksimal.
3. Sebagai acuan untuk melakukan penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pulpa Gigi

Pulpa adalah suatu jaringan lunak yang terletak di daerah tengah gigi dan dikelilingi oleh lapisan dentin (Walton dan Torabinejad, 2008). Pulpa dibatasi oleh dinding dentin yang rigid dan kurangnya sirkulasi kolateral maka perubahan volume di dalam ruang pulpa (seperti saat terjadi inflamasi) sangat terbatas. Hal ini mengurangi kemampuan pulpa dalam pertahanan dan perbaikan jaringan (Pashley dan Tay, 2012). Adanya cedera terhadap pulpa akan mengakibatkan ketidaknyamanan dan dapat menimbulkan suatu penyakit pada pulpa (Walton dan Torabinejad, 2008).

Jaringan pulpa gigi memiliki hubungan yang erat dengan dentin sehingga dipandang sebagai suatu kompleks dentin-pulpa. Fungsi yang erat antara pulpa dan dentin dapat dipandang dari berbagai aspek, yaitu:

1. pulpa mempunyai peranan besar dengan adanya sel-sel odontoblas dalam membentuk dentin baru baik secara fisiologis maupun sebagai respon terhadap stimuli dari luar.
2. pada pulpa dijumpai persarafan yang memberikan sensitivitas dentin.
3. pulpa sebagai jaringan ikat mampu memberi respon terhadap semua jejas yang terjadi pada dentin, walau tidak secara langsung, dengan menstimulasi sel odontoblas.
4. terkungkungnya pulpa dalam dentin memberikan lingkungan yang rendah adaptasi (*low compliance*) yang mempengaruhi kemampuan pertahanan pulpa (Pashley dan Tay, 2012; Abbott dan Yu, 2007).

### 2.2 Penyakit Pulpa

Terlepas dari konfigurasi anatomisnya dan beragamnya iritan, pulpa dapat bereaksi terhadap iritan ini sebagaimana reaksi jaringan ikat yang lain. Cedera pulpa mengakibatkan kematian sel, dan menyebabkan inflamasi. Derajat inflamasinya proporsional dengan intensitas dan keparahan kerusakan jaringannya. Cedera ringan, misalnya karies insipien atau preparasi kavitas yang dangkal,

hanya menimbulkan inflamasi sedikit saja atau bahkan tidak sama sekali. Sebaliknya, karies dalam, prosedur operatif yang luas, atau iritasi yang terus menerus pada umumnya akan menimbulkan kelainan inflamasi yang lebih parah. Bergantung kepada keparahan dan durasi gangguan dan kemampuan pejamu untuk menangkalnya, respon pulpa berkisar antara inflamasi sementara (pulpitis reversibel) sampai pada pulpitis irreversibel, dan kemudian menjadi nekrosis total. Perubahan-perubahan ini sering terjadi tanpa disertai rasa nyeri dan tanpa diketahui oleh pasien atau dokter gigi (Walton dan Torabinejad. 2008).

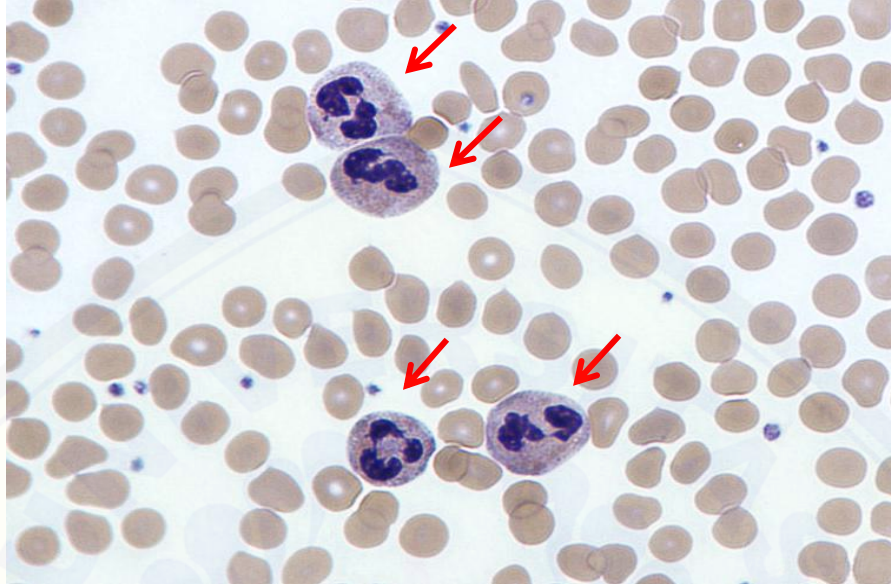
### 2.3 Sel Neutrofil

Neutrofil adalah jenis sel leukosit yang paling banyak yaitu sekitar 50-70% diantara sel leukosit yang lain. Neutrofil berukuran sekitar 14 mikron dan granulanya berbentuk butiran halus tipis. Neutrofil berfungsi sebagai garis pertahanan tubuh terhadap zat asing terutama terhadap bakteri. Bersifat fagosit dan dapat masuk ke dalam jaringan yang terinfeksi. Sirkulasi neutrofil dalam darah yaitu sekitar 10 jam dan dapat hidup selama 1-4 hari pada saat berada dalam jaringan ekstrasvaskuler (Kiswari,2014; Nugraha, 2015). Sel neutrofil mempunyai sitoplasma luas berwarna merah muda pucat dan granula halus berwarna ungu. Neutrofil sering juga disebut neutrofil polimorfonuklear karena inti selnya terdiri atas 2-5 segmen (lobus) yang bentuknya bermacam-macam dan dihubungkan dengan benang kromatin (Kiswari,2014).

Neutrofil meninggalkan pembuluh darah dan bergerak ke tempat infeksi, menyusul gradien kemotaktik yang dihasilkan oleh sinyal mikroba atau endogen. Di lokasi inflamasi, neutrofil diaktifkan untuk melakukan beberapa tugas, termasuk sekresi sitokin, degranulasi, dan fagositosis. Neutrofil adalah jenis fagosit yang menelan dan mencerna bakteri. Neutrofil dirangsang oleh  $TNF-\alpha$  untuk bergerak menuju lokasi infeksi lalu melakukan fagositosis terhadap bakteri. Neutrofil dapat menghasilkan protease dan ROS untuk membunuh bakteri patogen dengan cepat namun pelepasan molekul toksik ini juga dapat menghancurkan jaringan di sekitarnya. Neutrofil memiliki karakteristik morfologi khas yaitu bentuk inti bergranul (Gambar 2.1.). Inti dari neutrofil terbagi atas 2-5

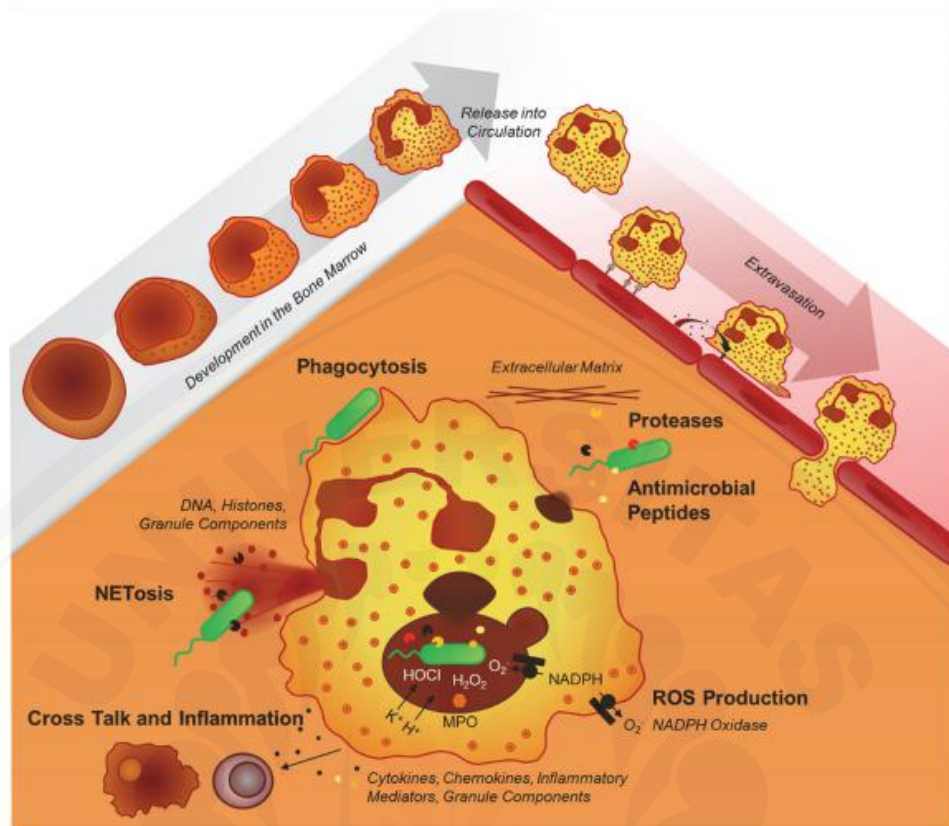


lobulus sehingga memiliki nama alternatif polimorfonuklear (Brinkmann dan Zychlinsky, 2012; Wright dkk., 2010).



Gambar 2.1 Sel neutrofil (panah merah) dengan inti bersegmen dikelilingi oleh erisosit dan platelet (Beards, 2012).

Penelitian oleh Nwakoby dkk. (2001) menunjukkan bahwa sel-sel neutrofil akan menjadi sel pertama yang tiba di lokasi kerusakan. Sekitar 100 miliar neutrofil dapat dihasilkan selama satu hari. Neutrofil dianggap sebagai mekanisme pertahanan utama. Gambar 2.2 menunjukkan aksi neutrofil sebagai fagosit.



Gambar 2.2. Mekanisme sel neutrofil dalam mengeliminasi infeksi dengan fagositosis disertai pelepasan berbagai macam komponen ke ruang ekstraseluler (protease, oksidan, peptida antimikroba (Kruger dkk.,2015).

## 2.4 Bioactive Glass

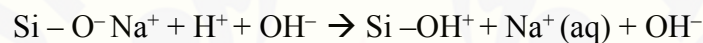
### 2.4.1 Pengertian *Bioactive Glass*

*Bioactive glass* merupakan suatu bahan yang dapat bereaksi dengan cairan fisiologis untuk membentuk ikatan yang kuat dengan tulang. Ikatan tersebut akan dilanjutkan dengan pelepasan ion untuk pembentukan lapisan *hydroxycarbonate apatite* (HCA), dan interaksi biologis kolagen dengan permukaan *glass*, sehingga berbagai macam reaksi ini sangat menguntungkan dalam proses penyembuhan fraktur tulang (Chen dkk., 2008). *Bioglass 45S5* tersusun oleh bahan dasar silika ( $\text{SiO}_2$ ) sebanyak 45% dan campuran bahan lainnya, seperti 24,5% kalsium oksida ( $\text{CaO}$ ), 24,5% sodium oksida ( $\text{Na}_2\text{O}$ ), dan 6% *phosphorous pentoxide* ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) (Krishnan dan Lakshmi, 2013).

#### 2.4.2 Bioactive Glass Silica

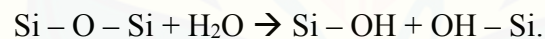
*Bioactive glass silica* merupakan jenis *bioactive glass* yang terdiri dari silika sebagai komposisi utama, dan campuran bahan lainnya sebagai komposisi tambahan. Salah satu contoh *bioactive glass silica* adalah *bioglass 45S5*. Bahan ini memiliki sifat biokompatibel terhadap tubuh dan digunakan secara luas dalam dunia kedokteran, terutama dalam hal penyembuhan tulang. Mekanisme penyembuhan tulang oleh *bioactive glass silica* terdiri dari:

1. Ion  $\text{Na}^+$  dan/  $\text{Ca}^+$  yang berasal dari bahan *bioactive glass silica* bereaksi dengan ion  $\text{H}^+$  yang berasal air, saliva, atau cairan tubuh. Reaksi tersebut merupakan reaksi substitusi sehingga menghasilkan kelompok ikatan silanol ( $\text{Si} - \text{OH}$ ).



Reaksi di atas akan meningkatkan nilai pH lokal (peningkatan  $\text{OH}^-$ )

2. Peningkatan pH akan menyebabkan silika  $\text{SiO}_2$  membentuk  $\text{Si}(\text{OH})_4$  sehingga pembentukan kelompok ikatan silanol ( $\text{Si} - \text{OH}$ ) akan terus berlanjut.



3. Kondensasi dan polimerisasi silika kemudian terjadi untuk membentuk lapisan silika gel.
4. Reaksi selanjutnya adalah terjadinya perpindahan ion – ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dan fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) ke luar lapisan silika gel untuk membentuk lapisan kalsium fosfat.
5.  $(\text{OH})^-$  dan  $(\text{CO}_3)^{2-}$  dari cairan tubuh kemudian akan bergabung dengan lapisan kalsium, dan pada akhirnya akan terjadi kristalisasi menjadi *hydroxycarbonate apatite* (HCA).

Pembentukan HCA akan merangsang *transformation growth factor* untuk menginisiasi sel – sel osteoblas untuk membentuk matriks ekstraselular (kolagen) di atas lapisan HCA. Kolagen tersebut akan mengalami mineralisasi sehingga bagian tulang yang hilang (fraktur) akan dapat digantikan (Rahaman dkk., 2011).

### 2.4.3 *Bioactive glass* sebagai anti-inflamasi

Inflamasi adalah suatu proses vital dari organisme agar dapat bertahan dengan cara mengeliminasi injuri. Reaksi inflamasi yang berlebihan dapat mengakibatkan pembengkakan pada jaringan. Reaksi ini dapat berujung pada kondisi anoksia. Rasa sakit dihasilkan dari kombinasi kinin, efek lisozim serta tekanan pada ujung saraf. *Bioactive glass* dapat memberikan efek anti-inflamasi. *Bioactive glass* memiliki kemampuan untuk menekan produksi *tumor necrosis factor* (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  adalah sitokin pro-inflamasi yang kuat yang tidak hanya berpartisipasi dalam respon inflamasi normal, namun juga terlibat dalam kondisi sepsis, gagal jantung kronis, *viral myocarditis* serta sejumlah gangguan inflamasi lainnya (Greenspan dkk., 2003).

## 2.5 Tanaman Tebu



Gambar 2.3 Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) (Koleksi pribadi).

Tanaman tebu memiliki nama latin *Saccharum officinarum*. Sistematika tanaman tebu adalah:

|           |  |
|-----------|--|
| Divisi    | : <i>Spermatophyta</i>                                 |
| Subdivisi | : <i>Angiospermae</i>                                  |
| Kelas     | : <i>Monocotyledone</i>                                |
| Ordo      | : <i>Graminales</i>                                    |
| Famili    | : <i>Graminae</i>                                      |
| Genus     | : <i>Saccharum</i>                                     |
| Spesies   | : <i>Saccarum officinarum</i> (Indrawanto dkk., 2010). |

### 2.5.1 Deskripsi Tanaman Tebu

#### a. Batang

Tanaman tebu mempunyai sosok yang tinggi, kurus, tidak bercabang dan tumbuh tegak. Tinggi batangnya dapat mencapai lebih kurang 3-5 m. Kulit batang keras berwarna hijau, kuning, ungu, merah tua atau kombinasinya. Pada batang terdapat lapisan lilin yang berwarna putih ke abu-abuan dan umumnya terdapat pada tanaman tebu yang masih muda. Batang tanaman tebu berdiri lurus dan beruas-ruas yang dibatasi dengan buku-buku dan setiap buku terdapat mata tunas. Batang tanaman tebu berasal dari mata tunas yang berada di bawah tanah yang tumbuh keluar dan berkembang membentuk rumpun. Diameter batang antara 3-5 cm.

#### b. Daun

Daun tebu merupakan daun tidak lengkap, karena hanya terdiri dari pelepah dan helaian daun, tanpa tangkai daun. Daun berpangkal pada buku batang dengan 5 kedudukan yang berseling. Pelepah memeluk batang, makin ke atas makin sempit. Pada pelepah terdapat bulu-bulu dan telinga daun. Daun tebu berbentuk busur panah seperti pita, berseling kanan dan kiri, berpelepah seperti daun jagung dan tak bertangkai. Tulang daun sejajar, di tengah berlekuk. Tepi daun kadang – kadang bergelombang serta berbulu keras.

#### c. Akar

Tebu mempunyai akar serabut yang panjangnya dapat mencapai satu meter. Sewaktu tanaman masih muda atau berupa bibit, ada 2 macam akar yaitu akar setek dan akar tunas. Akar setek/bibit berasal dari setek batangnya, tidak berumur panjang, dan hanya berfungsi sewaktu tanaman masih muda. Akar tunas berasal dari tunas, berumur panjang, dan tetap ada selama tanaman masih tumbuh.

#### d. Bunga

Bunga tebu merupakan bunga majemuk yang tersusun atas mulai dengan pertumbuhan terbatas. Bunga tebu berupa malai dengan panjang antara 50-80 cm. Cabang bunga pada tahap pertama berupa karangan bunga dan pada tahap

selanjutnya berupa tandan dengan dua bulir panjang 3-4 mm. Terdapat pula benangsari, putik dengan dua kepala putik dan bakal biji. Buah tebu seperti padi, memiliki satu biji dengan besar lembaga  $\frac{1}{3}$  panjang biji. Biji tebu dapat ditanam di kebun percobaan untuk mendapatkan jenis baru hasil persilangan yang lebih unggul (Indrawanto dkk., 2010).

### 2.5.2 Ampas tebu

Ampas tebu atau lazimnya disebut bagasse, adalah hasil samping dari proses ekstraksi (pemerahan) cairan tebu. Dari satu pabrik dihasilkan ampas tebu sekitar 35 – 40% dari berat tebu yang digiling (Indriani dan Sumiarsih, 1992). Ampas merupakan hasil samping dari proses ekstraksi tebu, dengan komposisi : 46-52% air, 43-52% sabut dan 2-6% padatan terlarut. Husin (2007) menyebutkan, berdasarkan data dari Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI) sebanyak 60% dari ampas tebu tersebut dimanfaatkan oleh pabrik gula sebagai bahan bakar, bahan baku pembuatan kertas, bahan baku industri kanvas rem, dan lain-lain. Selain itu, ampas tebu umumnya digunakan sebagai bahan pembuatan kertas atau dibakar menjadi abu bagasse (Hanafi dan Nandang, 2010). Abu bagasse ini memiliki kandungan silika sebesar 70% (Kristianingrum dkk., 2011). Pemanfaatan silika ampas tebu saat ini sudah beragam, mulai dari pemanfaatan sebagai bahan tambahan semen pada beton maupun bahan industri bangunan lainnya karena memiliki sifat lebih kuat, ringan, dan ekonomis sebagai bahan tambahan (Rompas dkk., 2013; Hanafi dan Nandang, 2010).



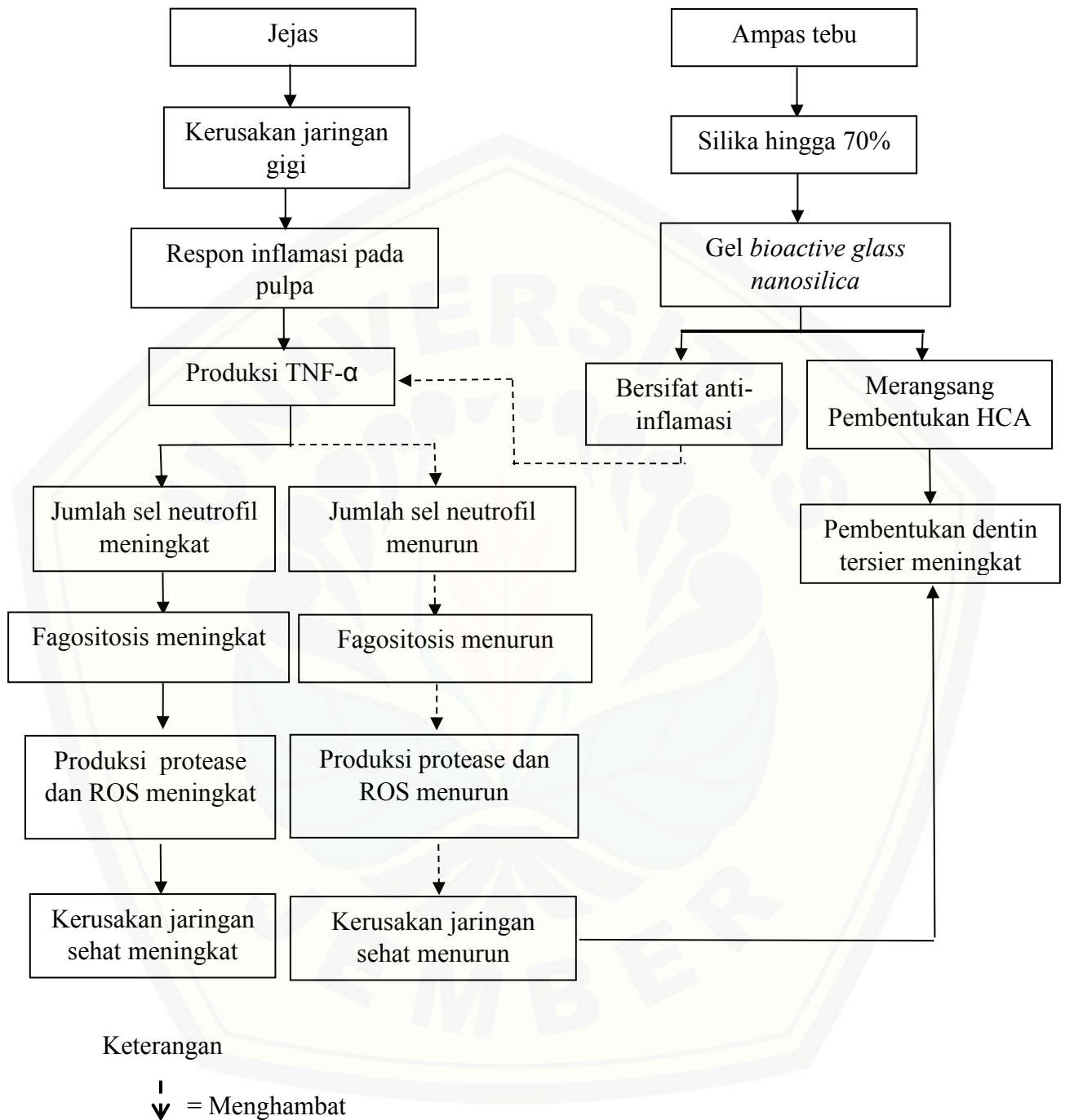
Gambar 2.4 Limbah ampas tebu yang melimpah (Yogi, 2016).

## 2.6 *Carboxymethylcellulose Sodium* (CMC-Na)

*Carboxymethylcellulose Sodium* (CMC-Na) adalah bahan yang umum digunakan dalam formulasi sediaan oral maupun topikal, merupakan basis pembuatan gel. CMC-Na dapat berperan sebagai *emulsifying agent* dan meningkatkan kekentalan dari sediaan yang dibuat (Rowe dkk., 2009). Keuntungan obat dengan sediaan gel ialah kemampuan penetrasi obat dalam kulit yang baik, dengan daya lekat tinggi yang tidak menyumbat pori sehingga pernapasan pori tidak terganggu. Setelah diaplikasi secara topikal, gel ini akan melekat pada permukaan jaringan, membentuk lapisan tipis dan bertindak sebagai barrier untuk melindungi ujung saraf yang terpajan menjadi lebih sensitif dari nyeri yang ditimbulkan dari kegiatan makan, minum, dan bahkan berbicara (Lachman dkk., 1994).

CMC-Na dalam dunia farmasi sering digunakan untuk bahan penyalut, agen pensuspensi, stabilisator, bahan pengikat pada tablet serta bahan yang mampu meningkatkan viskositas. Dalam sediaan bukal mukoadhesif, Na-CMC juga berperan sebagai bahan tambahan yang berfungsi untuk melindungi perlekatan produk dengan lapisan tisu dari kerusakan (Rowe dkk., 2006). Na-CMC sering dijadikan pilihan utama untuk formulasi sediaan oral dan sediaan topikal karena dapat meningkatkan viskositas.

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Bagan kerangka konsep



## 2.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu dapat menurunkan jumlah sel neutrofil pulpa tikus wistar jantan.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris secara *in vivo*. Rancangan penelitian ini menggunakan *the post-test only control group design* yaitu pengamatan atau pengukuran pada kelompok perlakuan dan membandingkannya dengan kelompok kontrol dalam waktu tertentu. Dilakukan secara langsung pada gigi molar rahang atas kiri tikus wistar jantan (Notoatmodjo, 2005).

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Pembuatan *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu dilakukan di Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember.
- b. Pembuatan sediaan gel dari *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- c. Pembuatan preparat jaringan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya.
- d. Pengamatan sel neutrofil pulpa dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember.

#### 3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November hingga Desember 2017.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bahan gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu.

### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah sel neutrofil pulpa gigi tikus wistar jantan.

### 3.3.3 Variable Terkendali

- 1) Tahap preparasi gigi molar satu rahang atas kiri tikus wistar jantan
- 2) Tahap pengaplikasian bahan
- 3) Tahap pemotongan jaringan

## 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 Jatiroto, Lumajang, diproses menjadi abu ampas tebu dengan cara dikeringkan, dibakar dengan api, dan dibakar dalam *furnace* bersuhu 900<sup>0</sup> C.

### 3.4.2 Gel *Bioactive Glass Nanosilica* (Gel BAG)

Gel *bioactive glass nanosilica* adalah bahan *powder bioactive glass nanosilica* yang dibuat dalam sediaan gel dengan penambahan *gelling agent* yaitu CMC-Na.

### 3.4.3 Sel Neutrofil

Neutrofil merupakan leukosit granular yang memiliki nukleus dengan 2-5 lobus yang dihubungkan dengan benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus, inti berwarna ungu yang telah dibuat preparat/sediaan mikroskopis dari pulpa tikus wistar dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin (HE) dan dilakukan pengamatan dengan mikroskop binokuler perbesaran 400x setelah tikus didekapitasi pada hari ke-3 dan 7.

### 3.5 Sampel Penelitian

#### 3.5.1 Populasi Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat 200-250 gr yang dilakukan adaptasi terhadap lingkungan selama 1 minggu.

#### 3.5.2 Kriteria Sampel

Penelitian dilakukan menggunakan 16 ekor tikus wistar jantan dengan kriteria: 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).

#### 3.5.3 Pengelompokan Sampel Penelitian

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

##### a. Kelompok Kontrol

1) Subkelompok pertama : Gigi molar satu rahang atas kiri tikus dibuat kavitas menggunakan bur sedalam 1 mm dan diperforasikan sebesar ujung sonde lalu ditumpat sementara. Tikus kemudian didekapitasi pada hari ke-3 setelah perlakuan (C3).

2) Subkelompok kedua : Gigi molar satu rahang atas kiri tikus dibuat kavitas menggunakan bur sedalam 1 mm dan diperforasikan sebesar ujung sonde lalu ditumpat sementara. Tikus kemudian didekapitasi pada hari ke- 7 setelah perlakuan (C7).

##### b. Kelompok Perlakuan

1) Subkelompok pertama : Gigi molar satu rahang atas kiri tikus dibuat kavitas menggunakan bur sedalam 1 mm dan

diperforasikan sebesar ujung sonde. Gel BAG diaplikasikan sebanyak 1 *spoon* ekskavator kecil ke dalam kavitas lalu ditumpat sementara. Tikus kemudian didekapitasi pada hari ke-3 setelah perlakuan (BAG3).

- 2) Subkelompok kedua : Gigi molar satu rahang atas kiri tikus dibuat kavitas menggunakan bur sedalam 1 mmdan diperforasikan sebesar ujung sonde. Gel BAG diaplikasikan sebanyak 1 *spoon* ekskavator kecil ke dalam kavitas lalu ditumpat sementara. Tikus kemudian didekapitasi pada hari ke-7 setelah perlakuan (BAG7).

#### 3.5.4 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan pada penilaian ini ditentukan melalui rumus besar sampel (Daniel, 2005) sebagai berikut:

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

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

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

$$n = 1,96^2$$

$$n = 3,84$$

$$n = 4$$

Keterangan :

n = Besar sampel minimal

$\sigma$  = Standar deviasi sampel

d = Kesalahan yang masih dapat di toleransi, diasumsikan  $d = \sigma$

z = Konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $z = 1,96$

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus di atas, diperoleh jumlah sampel minimal 4 buah untuk setiap subkelompok sampel sehingga jumlah seluruh sampel yang digunakan menjadi 16 ekor.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

- a. oven (Memmert, UL 40, Germany)
- b. *muffle furnace* (Heraeus, Germany)
- c. ayakan 200 mesh dan mangkok besar
- d. timbangan digital (Sartorius, Germany)
- e. mortar dan pastel
- f. pH meter elektrik (Cyberscan, United States of America)
- g. *magnetic stirrer dan magnetic stick* (Wisestir, Daihan Scientific)
- h. sendok kecil
- i. gelas ukur
- j. corong kaca
- k. cawan porselen
- l. kaca mulut no.3
- m. sonde lurus dan pinset
- n. baki *stainless* dan tempat saus
- o. mata bur bulat no. 10 diameter 1 mm<sup>2</sup> (Edenta, Switzerland)
- p. *syringe*
- q. *handpiece low speed* (W&H, Germany)
- r. spatula agate
- s. *handscoon*
- t. *object glass* dan *deck glass*
- u. *liner applicator*
- v. *blade* dan *scalpel*
- w. mikroskop binokuler (Olimpus, U-TV 5XC-3, Japan)

### 3.6.2 Bahan Penelitian

- a. tikus wistar jantan (24 ekor),
- b. ampas tebu,
- c. akuades,
- d. NaOH 2 N,
- e. etanol 2,5 ml,
- f. HNO<sub>3</sub> 2 M,
- g. P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (0,5 g),
- h. Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> . 4 H<sub>2</sub>O
- i. *powder bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu,
- j. tumpatan sementara (Caviton, Japan)
- k. larutan metilen biru 1%,
- l. kertas saring *Whatman*, No 42
- m. tisu
- n. larutan anestesi *ketamine HCL*
- o. aluminium foil
- p. *cotton pelet*
- q. *cotton roll*
- r. basis gel CMC-Na
- s. *paper pad*
- t. bahan fiksasi *buffer* formalin 10%
- u. alkohol 70%, 80%, 95%, 100%
- v. *xylol*
- w. bahan dekalsifikasi asam formit
- x. pewarna *hematoxylin eosin*

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Menyiapkan surat identifikasi tanaman tebu

Identifikasi tanaman tebu dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan Jawa Timur.

### 3.7.2 Menyiapkan *ethical clearance*

Pengajuan *ethical clearance* dilakukan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

### 3.7.3 Membuat *bioactive glass nanosilica*

Pembuatan *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu diawali dengan pembuatan prekursor silika yang berupa natrium silika. Prosedur pembuatan natrium silika dari ampas tebu sebagai berikut (Kristianingrum dkk., 2011):

- a. Sebanyak 5 kg ampas tebu dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian dibakar dengan api selama 2 jam.



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

- b. Ampas tebu dikeringkan dalam alat *furnace* bersuhu 900<sup>0</sup> C selama 2 hari hingga menjadi abu ampas tebu.



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



- c. Abu ampas tebu diayak menggunakan ayakan 200 mesh. Hasil ayakan abu tersebut ditimbang dan diambil 25 gram.



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

- d. Dua puluh lima gram abu dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer, kemudian ditambahkan larutan HCl 150 ml 0.1 M, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet selama 1 jam. Hasil pengadukan tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam.



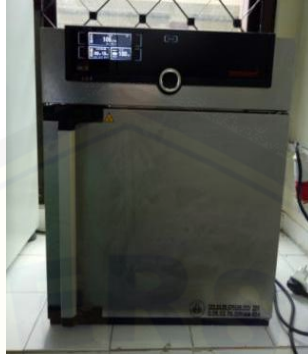
Gambar 3.4 Pengadukan abu ampas tebu dengan larutan HCl (Sumber : Koleksi Pribadi)

- e. Abu ampas tebu disaring menggunakan kertas saring 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)

- f. Abu ampas tebu dikeringkan dalam oven bersuhu  $110^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam kemudian ditimbang.



Gambar 3.6 Pengeringan menggunakan oven (Sumber : Koleksi Pribadi)

- g. Abu yang akan digunakan pada tahap selanjutnya adalah 10 gram. Abu tersebut dimasukkan ke dalam tabung 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 Pengadukan campuran abu ampas tebu dengan NaOH (Sumber : Koleksi Pribadi)

- h. Campuran di atas didinginkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil dari penyaringan ini adalah filtrat berupa natrium silikat.
- i. Natrium silikat dikeringkan dengan oven bersuhu  $110^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam sehingga terbentuk natrium silikat kering yang siap digunakan sebagai prekursor silika dalam pembuatan *bioactive glass nanosilica*.



Gambar 3.8 Natrium silikat kering (Sumber : Koleksi Pribadi)

Prosedur selanjutnya adalah membuat *bioactive glass nanosilica* dari natrium silikat. Prosedur pembuatan *bioactive glass nanosilica* dari natrium silikat sebagai berikut (Adams dkk., 2013):

- a. Natrium silikat ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer, dicampur dengan 15 ml akuades, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet.
- b. Sebanyak 2,5 ml etanol 96% ditambahkan pada campuran di atas dan tetap diaduk sampai larutan terlihat jernih.
- c.  $\text{HNO}_3$  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.
- d. Sebanyak 0,5 gr  $\text{P}_2\text{O}_5$  (*phosporus pentoxide*) ditambahkan dalam campuran di atas dan tetap diaduk selama 45 menit.
- e. Selanjutnya 4,1 gram  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (*calcium nitrate tetrahydrate*) ditambahkan dan tetap diaduk selama 45 menit. Terakhir campuran tersebut diaduk selama 1 jam sampai terbentuk gel dan didiamkan selama 5 hari dalam temperatur ruang.
- f. Campuran tersebut dikeringkan dalam oven bersuhu  $60^\circ\text{C}$  selama 72 jam.



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

- g. Pengeringan akhir dilakukan menggunakan alat *furnace* dengan suhu  $600^{\circ}\text{C}$  selama 5 jam, dilanjutkan dengan suhu  $1000^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam.
- h. *Bioactive glass* digerus dan diayak menggunakan ayakan 200 mesh dan diletakkan dalam botol kecil.



Gambar 3.10 Hasil akhir *powder bioactive glass* (Sumber : Koleksi Pribadi)

#### 3.7.4 Pembuatan Sediaan Gel BAG dari Abu Ampas Tebu (Macon dkk., 2015)

- a. Bubuk CMC-Na ditimbang sebanyak 3 gr.



Gambar 3.11 Penimbangan bubuk CMC-Na (Sumber : Koleksi Pribadi)

- b. Akuades dimasukkan ke dalam serbuk CMC-Na hingga berat campuran menjadi 100 gr sambil diaduk menggunakan pastel lalu diambil sebanyak 95 gr.



Gambar 3.12 Pengadukan serbuk CMC-Na dengan akuades (Sumber : Koleksi Pribadi)

- c. *Powder bioactive glass* ditimbang sebanyak 5 gr.



Gambar 3.13 Penimbangan *powder bioactive glass* (Sumber : Koleksi Pribadi)

- d. *Powder bioactive glass* dimasukkan ke dalam basis gel CMC-Na sebanyak 95gr.



Gambar 3.14 Penambahan *bioactive glass* ke dalam basis gel (Sumber : Koleksi Pribadi)

- e. Campuran *bioactive glass* dan basis gel diaduk hingga homogen.



(a)

(b)

(a) Pengadukan campuran; (b) gel BAG

Gambar 3.15 Tahap akhir pembuatan gel BAG (Sumber : Koleksi Pribadi)

### 3.7.5 Adaptasi Tikus

Tikus wistar sebanyak 16 ekor dengan berat 200-250 gr setiap ekornya diadaptasikan selama satu minggu sebelum mulai diberikan perlakuan di Laboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Farmasi Universitas Jember.



Gambar 3.16 Adaptasi tikus (Sumber : Koleksi Pribadi)

### 3.7.6 Tahap Perlakuan

- Menyiapkan tikus dengan difiksasi agar tidak bergerak.
- Menganestesi tikus pada kaki secara intramuskular dengan obat anastesi berupa *ketamin HCL* dan *xylazine* dengan dosis 0,2ml/200grBB untuk setiap satu ekor tikus.



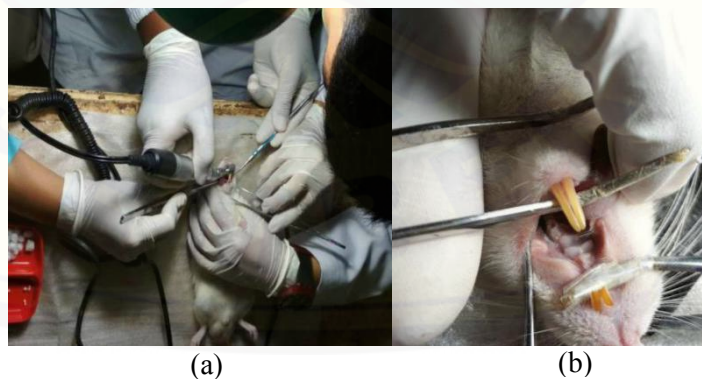
Gambar 3.17 Anestesi tikus dengan difiksasi (Sumber : Koleksi Pribadi)

- c. Tikus yang sudah dianestesi diposisikan pada meja kerja.



Gambar 3.18 Tikus yang teranestesi diposisikan terlentang (Sumber : Koleksi Pribadi)

- d. Meretraksi pipi tikus dengan menggunakan kaca mulut no.3, kemudian memblokir saliva dengan menggunakan *cotton roll* steril yang dipotong kecil.
- e. Gigi molar satu rahang atas kiri dipreparasi pada permukaan oklusal menggunakan *diamond round bur* nomor 10 (Edenta, Switzerland) menyisakan selapis tipis dentin dengan kedalaman 1 mm dan diperforasikan dengan ujung sonde.



(a) Preparasi gigi hewan coba ; (b) Hasil preparasi pada gigi M1

Gambar 3.19 Tahap preparasi gigi M1 rahang atas (Sumber : Koleksi Pribadi)

- f. Pada kelompok kontrol, kavitas dibersihkan menggunakan *cotton pellet* lalu ditumpat menggunakan tumpatan sementara.

- g. Pada kelompok perlakuan, diaplikasikan gel BAG sebanyak 1 *spoon* ekskavator pada kavitas dan diratakan menggunakan *liner applicator*.
- h. Kavitas ditumpat dengan tumpatan sementara.
- i. Tikus dimasukkan dalam kandang.
- j. Tikus diberi makan pelet dan minum sehari 2 kali menggunakan dot yang dipasang pada kandang.

### 3.7.7 Dekapitasi Hewan Coba

Pada hari ke-3 dan 7 setelah perlakuan, hewan coba didekapitasi untuk memisahkan kepala tikus dengan badan tikus. Menurut Isbagio (1992) langkah pertama yang dapat dilakukan adalah memasukkan kapas yang telah dibasahi kloroform ke dalam toples yang sesuai dengan besar tikus kemudian tikus dimasukkan ke dalam toples dan ditunggu sampai tikus tidak sadar lalu dilanjutkan dengan dislokasi servikal dan dekapitasi menggunakan *scalpel* dan gunting bedah.



(a)

(b)

(a) Pembiusan tikus dengan kloroform ; (b) dislokasi servikal

Gambar 3.20 *Euthanasia* hewan coba (Sumber : Koleksi Pribadi)



### 3.7.8 Fiksasi jaringan

Menurut Muntiha (2001) tahapan pembuatan preparat jaringan adalah sebagai berikut:

- a. Setelah tikus didekapitasi, dilakukan pengambilan rahang atas tikus untuk dibuat preparat jaringan.



Gambar 3.21 Pemisahan rahang atas tikus (Sumber : Koleksi Pribadi)

- b. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan *buffer* formalin 10 % agar tidak membusuk dan untuk melindungi struktur morfologi sel.



Gambar 3.22 Jaringan yang telah difiksasi (Sumber : Koleksi Pribadi)

### 3.7.9 Dekalsifikasi jaringan

Dekalsifikasi jaringan menggunakan larutan dekalifikasi. Larutan dekalifikasi yaitu larutan yang berfungsi untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sebelum pemotongan sehingga tulang menjadi lunak dan untuk memudahkan pemotongan. Tahapan dekalifikasi menurut Syafriadi (2007) yaitu:

- a. Jaringan didekalifikasi dengan memakai larutan asam formiat 10 % selama 10 hari dan dilakukan penggantian larutan selama dua hari sekali. Selama itu,

kelunakan tulang terus dipantau sampai benar-benar terdekalsifikasi. Ciri-ciri tulang terdekalsifikasi ialah strukturnya menjadi fleksibel, transparan, dan mudah ditusuk/digores.

- b. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat. Dengan urutan alkohol 70 % selama 15 menit, alkohol 80 % selama 1 jam, alkohol 95 % selama 2 jam, alkohol 95 % selama 2 jam, alkohol 100 % selama 1 jam, alkohol 100 % selama 1 jam dan alkohol 100 % selama 1 jam.
- c. 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 tabung kedua dan ketiga.
- d. Selanjutnya dilakukan impregnasi dengan cara, jaringan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam parafin dengan suhu 56- 60°C selama 6 jam.



Gambar 3.23 Jaringan dimasukkan ke dalam oven setelah dibungkus dengan kertas saring (Sumber : Koleksi Pribadi)

- e. *Embedding*, dilakukan penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu parafin.



Gambar 3.24 Tahap *embedding* (Sumber : Koleksi Pribadi)

- f. Setelah parafin beku dilakukan penyayatan blok parafin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 mm. Sayatan diambil lalu letakkan di atas

permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56-58°C hingga sayatan mekar.



Gambar 3.25 Penyayatan menggunakan mikrotom (Sumber : Koleksi Pribadi)

- g. Sayatan yang sudah mekar diambil dengan *object glass* yang diolesi dengan *mayer egg albumin*, dikeringkan dengan suhu 30-35°C selama 24 jam.



Gambar 3.26 Pengambilan sayatan menggunakan *object glass* (Sumber: Koleksi Pribadi)

### 3.7.10 Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (Syafriadi ,2007)

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



Gambar 3.27 Tahap deparafinisasi menggunakan *xylol* (Sumber : Koleksi Pribadi)

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



Gambar 3.28 Tahap rehidrasi menggunakan alkohol (Sumber : Koleksi Pribadi)

- c. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit. Preparat diwarnai dengan *Hematoxillin Mayer's* selama 45 detik.
- d. Bilas ulang dengan air mengalir selama 20 menit,



Gambar 3.29 Pembilasan preparat menggunakan air mengalir (Sumber : Koleksi Pribadi)

- e. Preparat direndam *eosin* selama 5 menit,
- f. Dehidrasi dengan alkohol konsentrasi meningkat 95 % dan 100 % masing masing 2-3 menit sebanyak 2 kali dalam wadah yang berbeda.



Gambar 3.30 Bahan alkohol untuk dehidrasi preparat (Sumber : Koleksi Pribadi)

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



Gambar 3.31 Bahan *xylol* untuk merendam preparat (Sumber : Koleksi Pribadi)

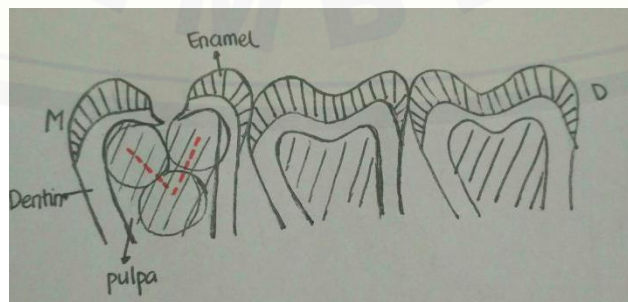
- h. *Mounting* menggunakan cairan *entellan* lalu ditutup dengan *deck glass*.



Gambar 3.31 Tahap *mounting* dengan cairan *entellan* (Sumber : Koleksi Pribadi)

### 3.7.11 Tahap Pengamatan dan Perhitungan

- Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.
- Penghitungan sel neutrofil dilakukan pada 3 lapang pandang yaitu pada bagian kiri, tengah dan kanan membentuk huruf V dan dihitung oleh 3 orang yang berbeda.
- Hasil penghitungan yang didapat dari 3 orang pengamat lalu dijumlahkan dan diambil reratanya.

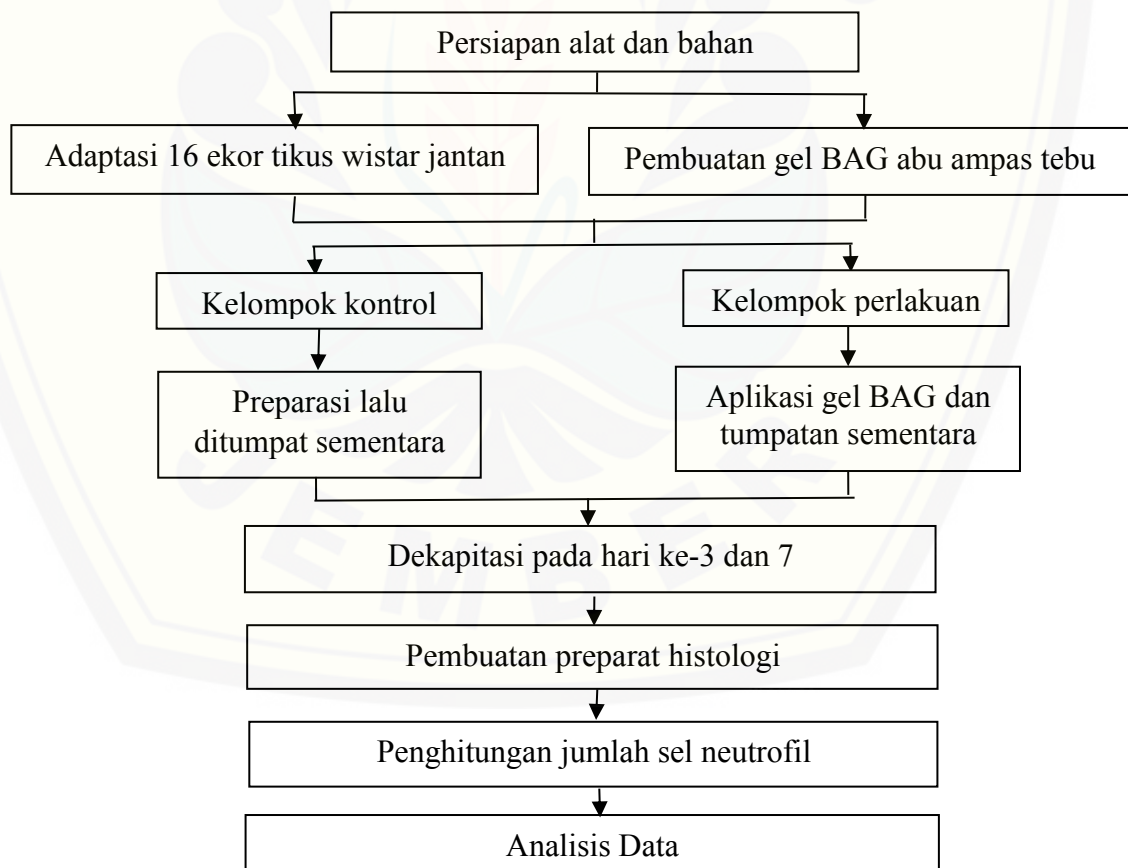


Gambar 3.32. Cara penghitungan sel neutrofil pada 3 lapang pandang membentuk huruf V (warna merah) (Sumber : Koleksi Pribadi)

### 3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* serta uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Kedua uji tersebut dilakukan untuk mengetahui distribusi data dengan signifikansi ( $p > 0,05$ ). Dari hasil uji normalitas dan homogenitas jika didapatkan data terdistribusi secara normal dan homogen, maka dilakukan uji statistik parametrik *One-way ANOVA* dan *least significant difference* dengan signifikansi ( $p < 0,05$ ). Uji *One-way ANOVA* digunakan untuk melihat ada/tidaknya perbedaan rata-rata pada seluruh kelompok sampel. Selanjutnya dilakukan uji *least significant difference* untuk membandingkan perbedaan antar kelompok sampel (Narimawati, 2008).

### 3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.32 Bagan alur penelitian

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian gel *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu pada pulpa gigi tikus wistar jantan yang mengalami inflamasi memiliki pengaruh terhadap jumlah neutrofil.
2. Gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu menurunkan jumlah sel neutrofil pulpa lebih banyak dibandingkan dengan tumpatan sementara *caviton*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan penulis adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh berbagai konsentrasi *bioactive glass nanosilica* dalam gel agar diketahui konsentrasi yang paling efektif dalam penurunan sel neutrofil pulpa.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian gel *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu terhadap berbagai sel imunokompeten pada pulpa gigi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, P.V., C. Yu. 2007. A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Australian Dental Journal*. 1:17-31.
- Adams, L. A., R. E. Enobong, O. S. Rafiu, O. Aderemi. 2013. Sol-gel synthesis of  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  bioactive glass ceramic from sodium metasilicate. *New Journal of Glass and Ceramics*. 3:11-15.
- Affandi, S., H. Setyawan, S. Winardi, A. Purwanto, R. Balgis. 2009. A facile method for production of high-purity xerogels from bagasse ash. *Advanced Powder Technology*. 20:468-472.
- Ansel, H. C. 2008. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Alih Bahasa: Ibrahim, F., Edisi keempat. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Beards, G. 2012. *Neutrophils*. Walsall: Wikimedia Commons.
- Brinkmann, V., A. Zychlinsky. 2012. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin?. *Journal Cell of Biology*. 198(5):773-783.
- Carvalho, M.M.F.D., F.D.Z. Fernandes, A.L. Andrade, V.R. Santos, K.A.T. Tavano, W.A. Vasconcelos. 2014. Bioactive glass with antimicrobial agents: in vitro evaluation. *Journal of Medicine and Medical Sciences*. 5(5): 109-112.
- Chen, L., H. Shen, B. Suh. 2013. Bioactive dental restorative materials: a review. *American Journal of Dentistry*. 26(4):219-217.
- Christofferson, G., E. Vagesjo, J. Vandooren, M. Liden, S. Massena, R.B. Reinert, M. Brissova, A.C. Powers, G. Opdenakker, M. Phillipson. 2012. VEGF-A recruits a proangiogenic MMP-9-delivering neutrophil subset that induces angiogenesis in transplanted hypoxic tissue. *Blood*. 120(23): 4653-4662.
- Dale, D.C., R. E. Person, A. A. Bolyard, A. G. Aprikyan, C. Bos, M. A. Bonilla, L. A. Boxer, G. Kannourakis, C. Zeidler, K. Welte, K. F. Benson, M. Horwitz. 2000. Mutations in the gene encoding neutrophil elastase in congenital and cyclic neutropenia. *Blood*. 96(4):2317-2322.
- Daniel, W. 2005. *Biostatistic a Foundation for Analysis in the Health Science*. Eighth edition. Georgia: Wiley.



- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2015. *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Tebu 2014-2016*.
- Effendi, Zukesti. 2003. Peranan Leukosit sebagai Anti-inflamasi Alergik dalam Tubuh. *Universitas Sumatra Utara Digital Library*.
- Eming, S. A., Krieg, Thomas, Davidson, J. M. 2007. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanism. *Journal of Investigative Dermatology*. 127(3):514-25.
- Farooq, I., Zonera I., Umer F., Ali F., Humera A. 2012. Bioactive glass : a material for the future. *World Journal of Dentistry*. 3 (2) : 199 – 201.
- Gillete, R.L., Swaim, S.F., Sartin, E.A., Bradley, D.M., Coolman, S.L. 2001. Effects of abioactive glass on healing of closed skin wounds in dogs. *American Journal Veterinary Research*. 62(7):1149-1153.
- Greenspan, David C., Sean Lee, Marlo Tan Walpole. 2003. Anti-inflammatory bioactive glass particulates. *Usbiomaterials*.
- Guyton, A. C., Hall J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi kesembilan. Jakarta : EGC.
- Haghgoo, R., N. J. Naderi. 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.
- Hanafi, A., A. Nandang. 2010. Studi pengaruh bentuk silika dari abu ampas tebu terhadap kekuatan produk keramik. *Jurnal Kimia Indonesia*. 5(1): 35-38.
- Hench, L. L., G. H. Pigott, F. J. Schoen, J. Wilson. 1981. Toxicology and biocompatibility of bioglasses. *Journal of Biomedical Materials Research*. 15: 805-817.
- Hoppe, A., Guldal, N. S., Boccaccini, A.R. 2011. A review of a biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 32: 2757-2774.
- Husin, A. A. 2007. *Pemanfaatan Sekam Padi dan Abu Sekam Padi untuk Pembuatan Bata Beton Berlubang*. e-jurnal Balitbang PU. Bandung: Pusat Litbang Pemukiman.
- Inajati, R. T.E. Untara, T. Nugraheni. 2016. Perbandingan kebocoran mikro antara tumpatan sementaraberbasis resin, kalsium sulfat dan seng oksida eugenol. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 7(2): 93-96

- Indrawanto, C., Purnomo, Siswanto, M.Syakir.,Widi R. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Jakarta: ESKA Media.
- Indriani dan Sumiarsih. 1992. *Pembudidayaan Tebu di Lahan Sawah dan Tegalan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Isbagio, D. W. 1992. Euthanasia pada hewan percobaan. *Media Litbangkes*. 2(1): 18-24.
- Kiswari, dr. Rukman. 2014. *Hematologi dan Transfusi*. Jakarta : Erlangga.
- Kusumastuti, E., Handajani, J., Susilowati, H. 2014. Ekspresi COX-2 dan jumlah neutrofil fase inflamasi pada proses penyembuhan luka setelah pemberian sistemik ekstrak etanolik rosela (*Hibiscus sabdariffa*) (studi in vivo pada tikus wistar). *Majalah Kedokteran Gigi*.21(1): 13 - 19.
- Lutfiyah, Nahzi, M.Y.I., Raharja, S.D. 2016. Pengaruh ekstrak kulit manggis (*garcinia mangostana* L.) terhadap jumlah neutrofil pada inflamasi pulpa *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 1(1): 203-208.
- Mabrouk, M., Selim., Hanan B., El – Gohary M. I. 2012. Effect of incorporation of nano bioactive silica into commercial glass ionomer cements (GIC). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 10: 113 – 119.
- Macon, A. L. B., J. R. Jones, E. Valliant. 2015. Bioactivity of toothpaste containing bioactive glass in remineralizing media: effect of fluoride release from enzymatic. *Biomedical Glasses*. 1:41-50.
- Munasir, Z. 2001. Respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri*. 2(4):193-197.
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Kinasih, Catur P. 2016. Pemanfaatan Bioactive Glass Nanosilica dari Abu Ampas Tebu sebagai Remineralizing Agent untuk Meminimalkan Kebocoran Tepi pada Semen Ionomer Kaca. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Krishnan, V., T. Lakshmi. 2013. Bioglass: a novel biocompatible innovation. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 4(2): 78-83.

- Kristianingrum, S., E. D. Siswani, A. Fillaeli. 2011. *Pengaruh Jenis Asam pada Sintesis Silika Gel dari Abu Bagasse dan Uji Sifat Adsorptifnya terhadap Ion Logam Tembaga (II)*. Yogyakarta: UNY.
- Kruger,P., M. Saffarzadeh, A.N.R. Weber, N. Rieber, M. Radsak, H.V. Bernuth, C. Benarafa, D.Roos, J. Skokowa, D. Harti. 2015. Neutrophils: between host defence, immune modulation, and tissue injury. *Pathogens*. 11(3): 1-23.
- Lachman, L., H. A. Liberman. 1994. *Teori dan Praktik Farmasi Industri*. Edisi kedua. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Luthfiyah, M.Y.I. Nahzi, S.D. Raharja. 2016. Pengaruh ekstrak kulit manggis (*garcinia mangostana l.*) terhadap jumlah neutrofil pada inflamasi pulpa. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 1 (2): 203-208.
- Narimawati,U. 2008. *Metodologi Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif, Teori dan Aplikasi*. Bandung: Agung Media.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugraha, Gilang. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta Timur : CV. Trans Info Media.
- Nwakoby, I. E., K. Reddy., P. Patel,N. Shah, S. Sharma,M. Bhaskaran,N. Gibbons,A.A. Kapasi, P.C. Singhal.2001. Fas-mediated apoptosis of neutrophils in sera of patients with infection. *Infection and Immunity*. 69(5): 3343-3349.
- Pashley, D.H., F. R. Tay. 2012. *Pulpodentin Complex* in Seltzer and Bender's Dental Pulp. Second edition. eds Hargreaves, K.M., H. E. Goodis, F. R. Tay.. Chicago:Quitessence Publishing Co.Inc.
- Price, A. Sylvia, Lorraine Mc. Carty Wilson. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi keenam.Alih bahasa: Peter Anugrah. Jakarta: EGC.
- Putri P.F.I. 2013. Respons Antiinflamasi EkstrakKulit Buah Manggis (*Garcinia MangostanaLinn*) Terhadap Jumlah Sel Neutrofil PadaGingiva Tikus Wistar Jantan Pasca Diinduksi Oleh *Porphyromonas Gingivalis*. *Skripsi*.Jember: Universitas Jember.
- Rahaman, M. N., D. E. Day, B. S. Bal, Q. Fu, S. B Jung, L. F. Bonewald, A. P. Tomsia. 2011. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 7: 2355-2373.

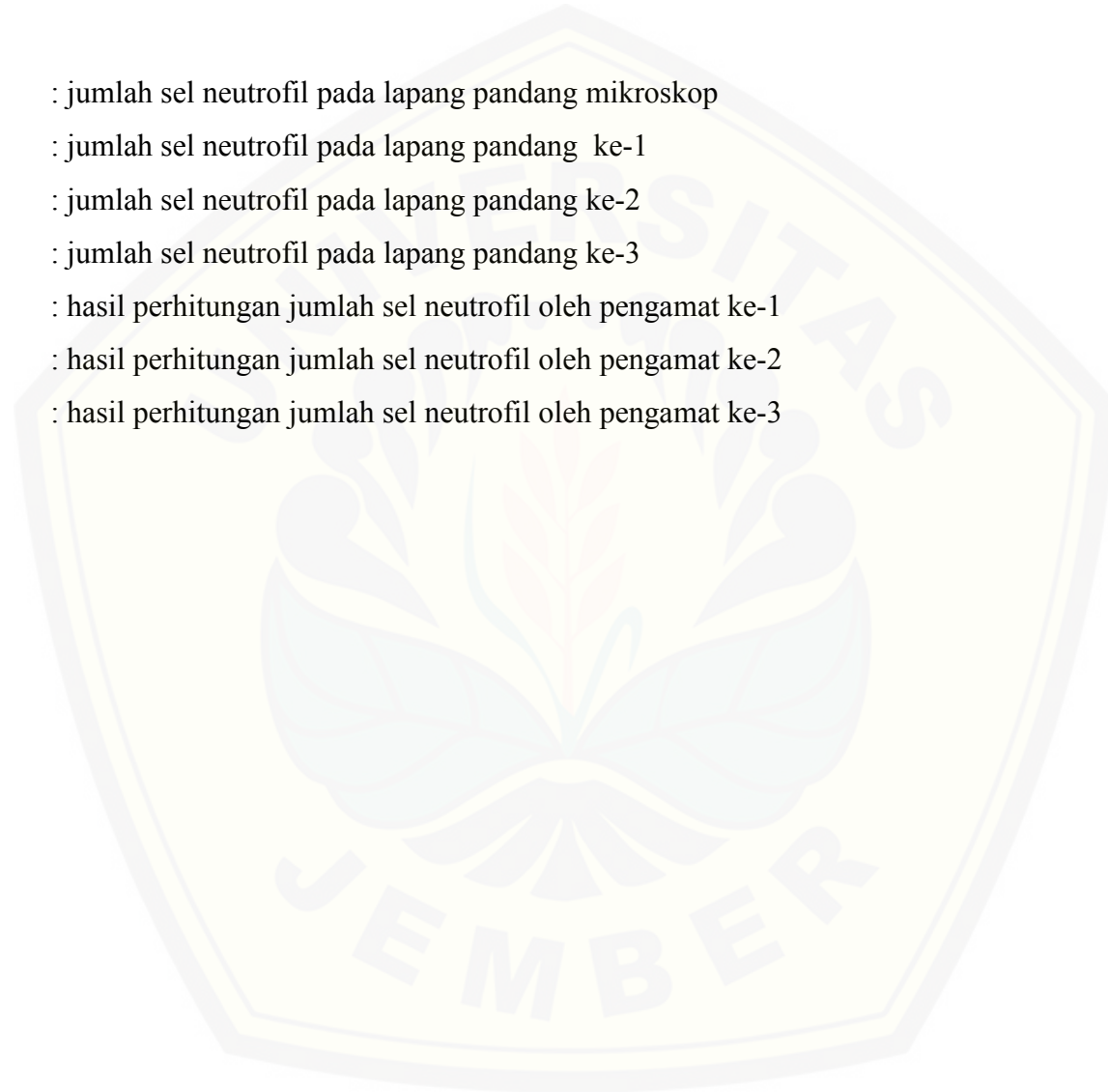
- Rompas, G.P., Pangouw, R. Pandaleke, J.B. Mangare. 2013. Pengaruh pemanfaatan abu ampas tebu sebagai substitusi parsial semen dalam campuran beton ditinjau terhadap kuat tarik lentur dan modulus elastisitas. *Jurnal Sipil Statik*. 1(2): 82-89.
- Rowe, R.C., P.J.Sheskey, S.O. Owen. 2006. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*. Fifth Edition. London: The Pharmaceutical Press.
- Rowe, R.C., P.J.Sheskey, M.E. Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth edition. Washington D.C: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Rulkens, Ton. 2010. Saccharum officinarum, Mozambique. *Wikimedia Commons*.
- Sharma, S. 2008. Topical drug delivery system: a review. *Pharmaceutical*. 6:1-29.
- Syafriadi, Mei. 2007. *Patologi Anatomi Degenerasi dan Radang: Petunjuk praktikum*. Jember: FKG UNEJ.
- Vichery, C., J. M. Nedelec. 2016. Bioactive glass nanoparticles: from synthesis to materials design for biomedical applications. *Materials*. 9: 1-17.
- Walton, R. E., M. Torabinejad. 2008. *Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsi*. Alih Bahasa: Narlan, S., Winiati, S., Bambang, N. Edisi ketiga. Jakarta: EGC.
- Wright, H.L., Moots, R.J., Bucknall, R.C., Edwards, S.W. 2010. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. *Rheumatology*. 9(9):1618-1631.
- Yogi, Y. A. 2016. *Potensi Ampas Tebu sebagai Bahan Baku Penghasil Listrik*. Bogor: Pusat Peneitian dan Penembangan Perkebunan.

**Lampiran A. Rerata Hasil Perhitungan Jumlah Sel Neutrofil pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol**

| Kelompok                              | Hari ke-                              | Sampel | Lapang pandang (LP) |                     |     |        |        |     |     |        |        |     |     |        | Rerata LP |           |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--------|---------------------|---------------------|-----|--------|--------|-----|-----|--------|--------|-----|-----|--------|-----------|-----------|
|                                       |                                       |        | P1                  |                     |     |        | P2     |     |     |        | P3     |     |     |        |           |           |
|                                       |                                       |        | LP1                 | LP2                 | LP3 | Rerata | LP1    | LP2 | LP3 | Rerata | LP1    | LP2 | LP3 | Rerata |           |           |
| Perlakuan(gel BAG)                    | 3                                     | 1      | 33                  | 32                  | 34  | 33     | 34     | 33  | 29  | 32     | 35     | 33  | 34  | 34     | 33        |           |
|                                       |                                       | 2      | 36                  | 34                  | 35  | 35     | 30     | 31  | 32  | 31     | 29     | 31  | 29  | 30     | 32        |           |
|                                       |                                       | 3      | 35                  | 32                  | 31  | 33     | 32     | 28  | 29  | 30     | 33     | 32  | 28  | 31     | 31        |           |
|                                       |                                       | 4      | 35                  | 34                  | 35  | 35     | 30     | 32  | 29  | 30     | 32     | 34  | 30  | 32     | 32        |           |
|                                       | Rerata jumlah sel neutrofil hari ke-3 |        |                     |                     |     |        |        |     |     |        |        |     |     |        | 32        |           |
|                                       | 7                                     | 1      | Sampel              | Lapang pandang (LP) |     |        |        |     |     |        |        |     |     |        |           | Rerata LP |
|                                       |                                       |        |                     | P1                  |     |        |        | P2  |     |        |        | P3  |     |        |           |           |
|                                       |                                       |        |                     | LP1                 | LP2 | LP3    | Rerata | LP1 | LP2 | LP3    | Rerata | LP1 | LP2 | LP3    | Rerata    |           |
|                                       |                                       |        |                     | 1                   | 21  | 22     | 25     | 23  | 20  | 22     | 18     | 20  | 23  | 21     | 20        | 21        |
|                                       |                                       | 2      | 25                  | 26                  | 24  | 25     | 24     | 25  | 21  | 23     | 20     | 24  | 22  | 22     | 23        |           |
|                                       |                                       | 3      | 26                  | 25                  | 22  | 24     | 22     | 24  | 21  | 22     | 25     | 25  | 24  | 25     | 24        |           |
|                                       |                                       | 4      | 28                  | 27                  | 28  | 28     | 25     | 24  | 23  | 24     | 22     | 25  | 21  | 23     | 25        |           |
| Rerata jumlah sel neutrofil hari ke-3 |                                       |        |                     |                     |     |        |        |     |     |        |        |     |     | 23     |           |           |

| Kelompok                              | Hari ke-                              | Sampel | Lapang pandang |                |     |        |        |     |     |        |        |     |     |        | Rerata LP |           |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--------|----------------|----------------|-----|--------|--------|-----|-----|--------|--------|-----|-----|--------|-----------|-----------|
|                                       |                                       |        | P1             |                |     |        | P2     |     |     |        | P3     |     |     |        |           |           |
|                                       |                                       |        | LP1            | LP2            | LP3 | Rerata | LP1    | LP2 | LP3 | Rerata | LP1    | LP2 | LP3 | Rerata |           |           |
| Kontrol(Tum patan sementara)          | 3                                     | 1      | 36             | 36             | 38  | 37     | 39     | 40  | 42  | 40     | 39     | 38  | 40  | 39     | 39        |           |
|                                       |                                       | 2      | 39             | 40             | 36  | 38     | 35     | 37  | 36  | 36     | 36     | 37  | 33  | 35     | 36        |           |
|                                       |                                       | 3      | 33             | 33             | 34  | 33     | 32     | 34  | 35  | 34     | 35     | 37  | 38  | 37     | 35        |           |
|                                       |                                       | 4      | 32             | 33             | 33  | 33     | 35     | 34  | 37  | 35     | 36     | 35  | 37  | 36     | 35        |           |
|                                       | Rerata jumlah sel neutrofil hari ke-3 |        |                |                |     |        |        |     |     |        |        |     |     |        | 36        |           |
|                                       | 7                                     | 1      | Sampel         | Lapang pandang |     |        |        |     |     |        |        |     |     |        |           | Rerata LP |
|                                       |                                       |        |                | P1             |     |        |        | P2  |     |        |        | P3  |     |        |           |           |
|                                       |                                       |        |                | LP1            | LP2 | LP3    | Rerata | LP1 | LP2 | LP3    | Rerata | LP1 | LP2 | LP3    | Rerata    |           |
|                                       |                                       |        |                | 1              | 31  | 32     | 28     | 30  | 35  | 32     | 31     | 33  | 29  | 32     | 31        |           |
|                                       |                                       | 2      | 34             | 33             | 32  | 33     | 35     | 35  | 34  | 35     | 35     | 36  | 39  | 37     | 35        |           |
| 3                                     |                                       | 33     | 32             | 29             | 31  | 33     | 35     | 34  | 34  | 31     | 33     | 34  | 33  | 33     |           |           |
| 4                                     |                                       | 30     | 32             | 31             | 31  | 29     | 28     | 33  | 30  | 36     | 35     | 35  | 35  | 32     |           |           |
| Rerata jumlah sel neutrofil hari ke-7 |                                       |        |                |                |     |        |        |     |     |        |        |     |     | 33     |           |           |

- Keterangan: LP : jumlah sel neutrofil pada lapang pandang mikroskop  
LP1 : jumlah sel neutrofil pada lapang pandang ke-1  
LP2 : jumlah sel neutrofil pada lapang pandang ke-2  
LP3 : jumlah sel neutrofil pada lapang pandang ke-3  
P1 : hasil perhitungan jumlah sel neutrofil oleh pengamat ke-1  
P2 : hasil perhitungan jumlah sel neutrofil oleh pengamat ke-2  
P3 : hasil perhitungan jumlah sel neutrofil oleh pengamat ke-3



**Lampiran B. Hasil Uji Analisis Data**

**B.1 Uji Normalitas *Saphiro-Wilk* Perhitungan Sel Neutrofil**

**Tests of Normality**

|               | kelompok perlakuan | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Saphiro-Wilk |    |      |
|---------------|--------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|               |                    | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| sel_neutrofil | caviton hari ke 3  | ,303                            | 4  | .    | ,791         | 4  | ,086 |
|               | caviton hari ke 7  | ,192                            | 4  | .    | ,971         | 4  | ,850 |
|               | gel hari ke 3      | ,250                            | 4  | .    | ,945         | 4  | ,683 |
|               | gel hari ke 7      | ,192                            | 4  | .    | ,971         | 4  | ,850 |

a. Lilliefors Significance Correction

**B.2 Uji Homogenitas *Levene-Test* Perhitungan Sel Neutrofil**

**Descriptives**

sel neutrofil

|                   | N  | Mean  | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------------------|----|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                   |    |       |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
|                   |    |       |                |            | caviton hari ke 3                | 4           |         |         |
| caviton hari ke 7 | 4  | 32,75 | 1,708          | ,854       | 30,03                            | 35,47       | 31      | 35      |
| gel hari ke 3     | 4  | 32,00 | ,816           | ,408       | 30,70                            | 33,30       | 31      | 33      |
| gel hari ke 7     | 4  | 23,25 | 1,708          | ,854       | 20,53                            | 25,97       | 21      | 25      |
| Total             | 16 | 31,06 | 5,144          | 1,286      | 28,32                            | 33,80       | 21      | 39      |

**Test of Homogeneity of Variances**

sel neutrofil

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,837             | 3   | 12  | ,499 |

**B.3 Uji *One-Way ANOVA* Perhitungan Sel Neutrofil**

sel neutrofil

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 366,688        | 3  | 122,229     | 48,488 | ,000 |
| Within Groups  | 30,250         | 12 | 2,521       |        |      |
| Total          | 396,938        | 15 |             |        |      |



B.4 Uji LSD (*Least Significant Difference*) Perhitungan Sel Neutrofil

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: sel neutrofil

LSD

| (I)<br>kelompok_perlakuan | (J)<br>kelompok_perlakuan | Mean Difference<br>(I-J) | Std.<br>Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------|------|-------------------------|-------------|
|                           |                           |                          |               |      | Lower<br>Bound          | Upper Bound |
| caviton hari ke 3         | caviton hari ke 7         | 3,500*                   | 1,123         | ,009 | 1,05                    | 5,95        |
|                           | gel hari ke 3             | 4,250*                   | 1,123         | ,003 | 1,80                    | 6,70        |
|                           | gel hari ke 7             | 13,000*                  | 1,123         | ,000 | 10,55                   | 15,45       |
| caviton hari ke 7         | caviton hari ke 3         | -3,500*                  | 1,123         | ,009 | -5,95                   | -1,05       |
|                           | gel hari ke 3             | ,750                     | 1,123         | ,517 | -1,70                   | 3,20        |
|                           | gel hari ke 7             | 9,500*                   | 1,123         | ,000 | 7,05                    | 11,95       |
| gel hari ke 3             | caviton hari ke 3         | -4,250*                  | 1,123         | ,003 | -6,70                   | -1,80       |
|                           | caviton hari ke 7         | -,750                    | 1,123         | ,517 | -3,20                   | 1,70        |
|                           | gel hari ke 7             | 8,750*                   | 1,123         | ,000 | 6,30                    | 11,20       |
| gel hari ke 7             | caviton hari ke 3         | -13,000*                 | 1,123         | ,000 | -15,45                  | -10,55      |
|                           | caviton hari ke 7         | -9,500*                  | 1,123         | ,000 | -11,95                  | -7,05       |
|                           | gel hari ke 3             | -8,750*                  | 1,123         | ,000 | -11,20                  | -6,30       |

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

## Lampiran C. Foto Alat dan Bahan Penelitian

### C.1 Foto Alat Penelitian



Keterangan :

- |                                |                             |
|--------------------------------|-----------------------------|
| a. Baki <i>stainless steel</i> | j. <i>Scalpel dan blade</i> |
| b. Tempat saus                 | k. Gunting bedah            |
| c. Tempat fiksasi jaringan     | l. Pinset                   |
| d. <i>Glassplate</i>           | m. Sonde lurus              |
| e. Tempat tampon               | n. Probe WHO                |
| f. <i>Paper pad</i>            | o. <i>Excavator</i>         |
| g. <i>Dappen glass</i>         | p. <i>Liner applicator</i>  |
| h. <i>Chip blower</i>          | q. Spatula agate            |
| i. Kaca mulut no. 3            | r. <i>Syringe 1cc</i>       |
|                                | s. Gunting besar            |



Lampu belajar



Mangkok besar



Sendok



Timbangan



pH meter



*Magnetic stirer*



Oven



*Muffle furnace*



*Magnetic stick*



Gelas ukur dan corong

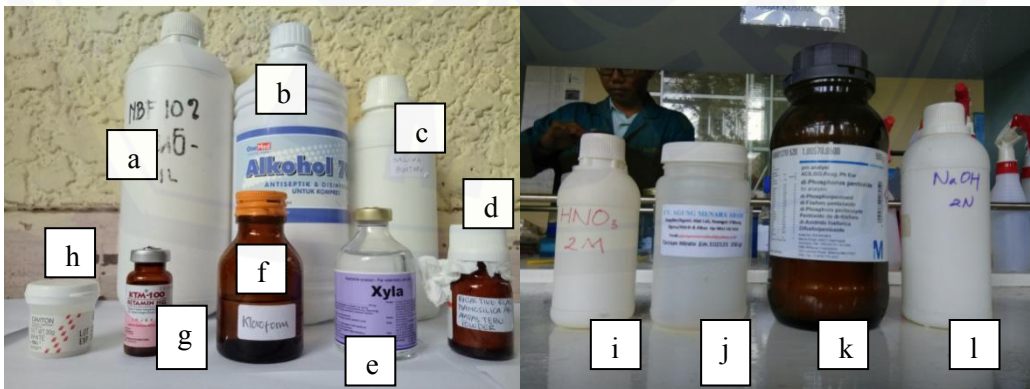


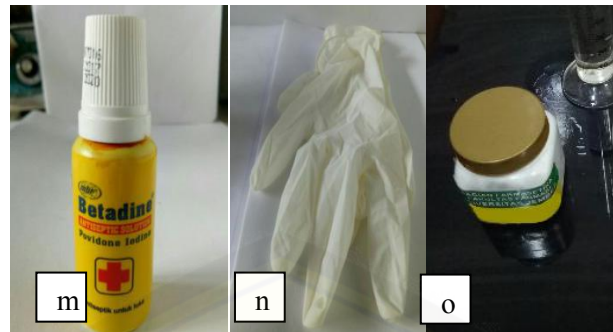
Bur low speed



Mortar pastel dan cawan

B.2 Foto Bahan Penelitian



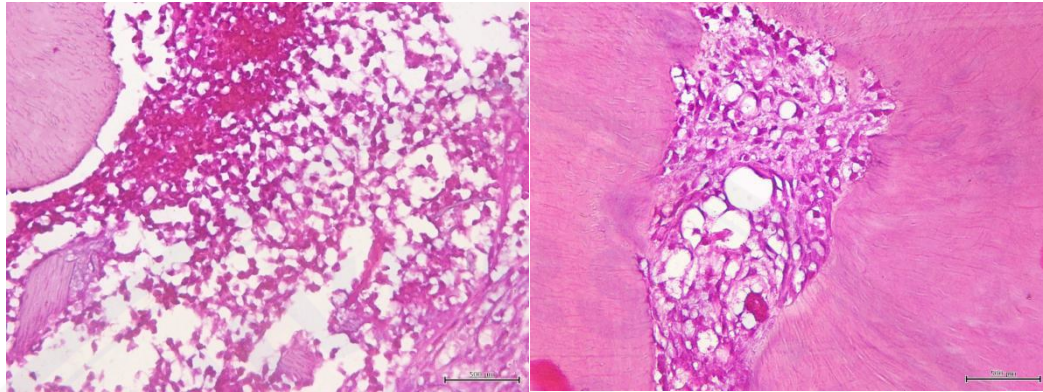


Keterangan gambar :

- a. Larutan buffer formalin 10 %
- b. Alkohol 70 %
- c. Akuades
- d. *Powder bioactive glass nano silica abu ampas tebu*
- e. *Xylazine*
- f. *Kloroform*
- g. *Ketamine HCL*
- h. *Caviton*
- i.  $\text{HNO}_3$  2 M
- j.  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- k.  $\text{P}_2\text{O}_5$
- l. NaOH
- m. *Betadine*
- n. *Handscoon*
- o. Bubuk CMC-Na

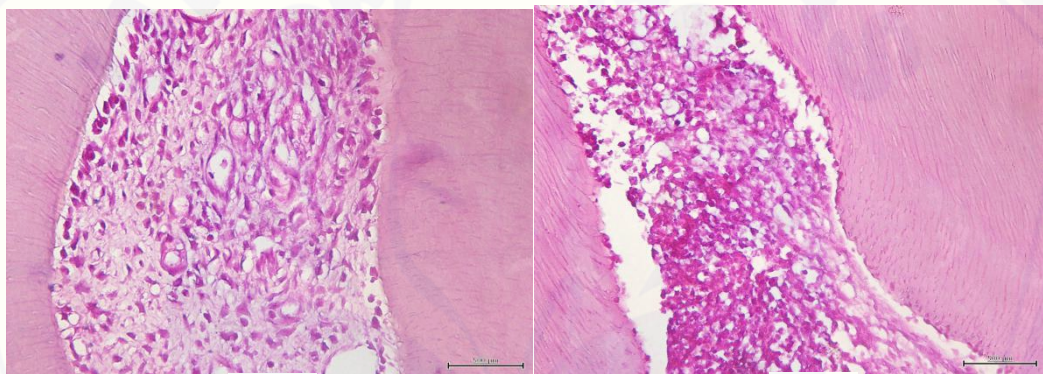
**Lampiran D. Hasil Gambar Preparat Histologi**

C.1 Gambaran Histologi Kelompok Sampel yang Hanya Ditumpat Sementara dengan *Cavition* Selama 3 Hari dengan Pewarnaan HE Perbesaran 400x



(a)

(b)

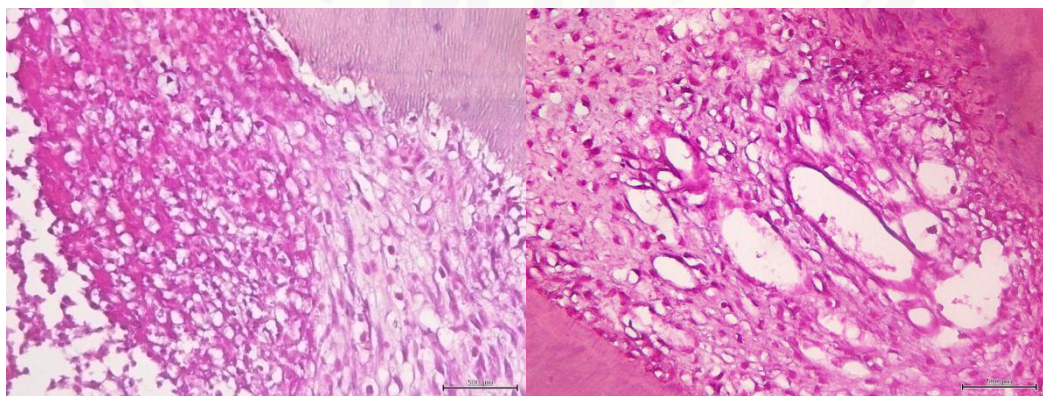


(c)

(d)

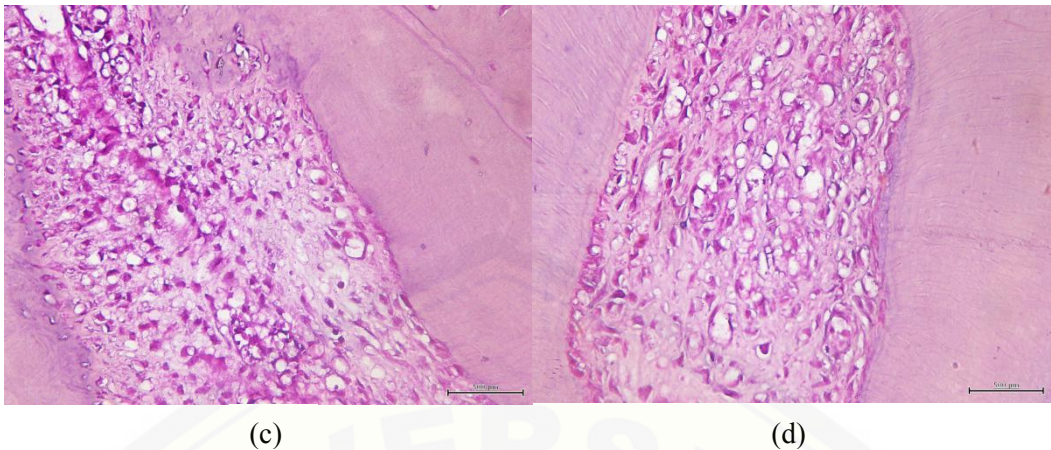
Keterangan: Gambaran histologi kelompok kontrol yang ditumpat sementara dengan *cavition*. (a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

C.2. Gambaran Histologi Kelompok Sampel yang Hanya Ditumpat Sementara dengan *Cavition* Selama 7 Hari dengan Pewarnaan HE Perbesaran 400x



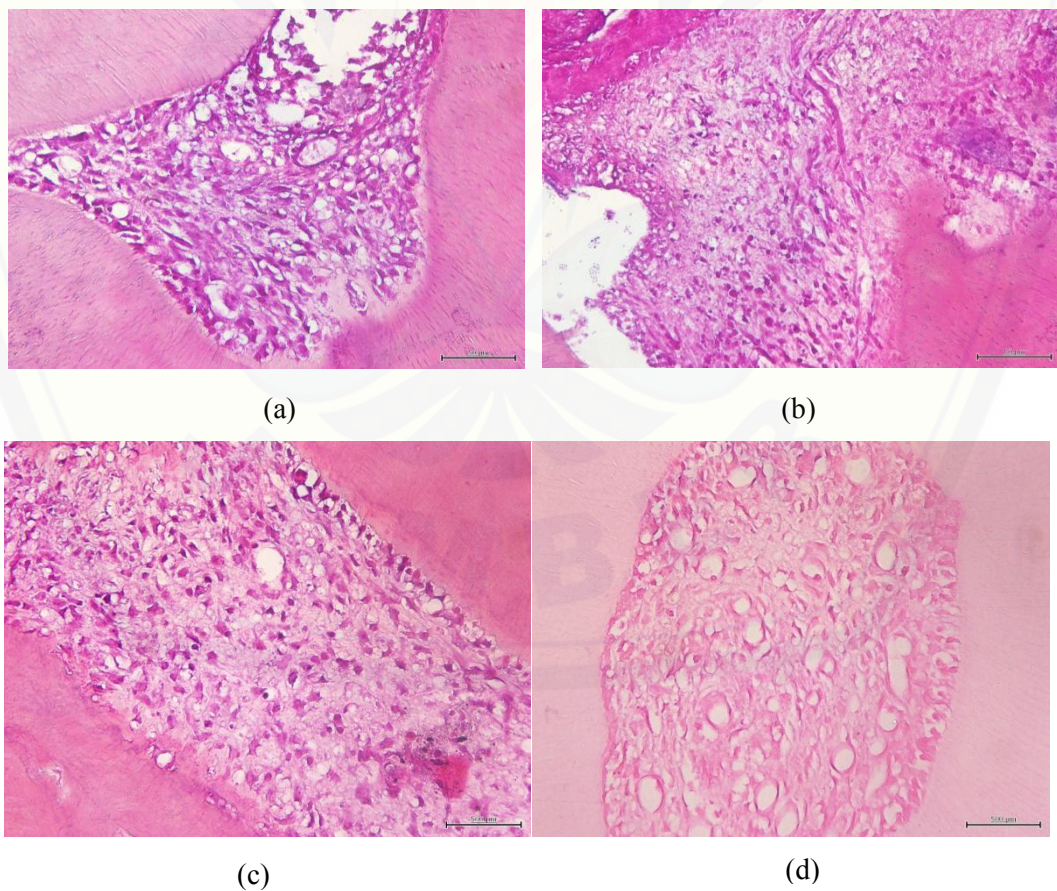
(a)

(b)



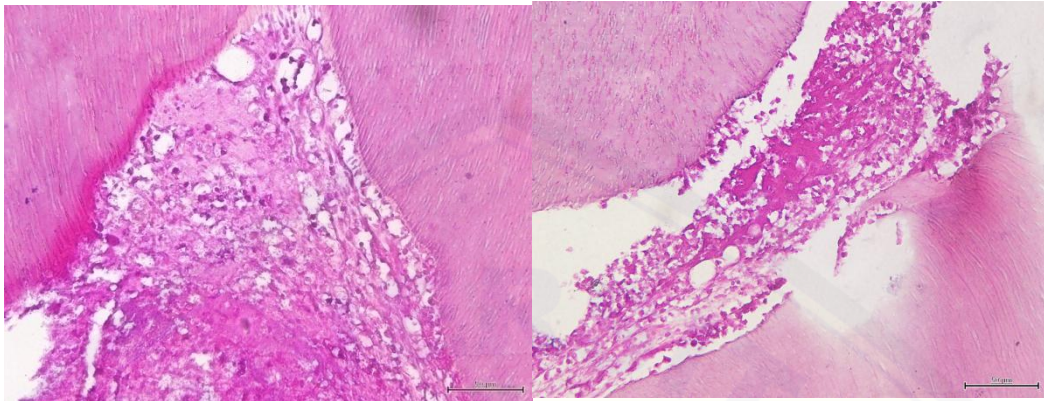
Keterangan: Gambaran histologi kelompok kontrol yang ditumpat sementara dengan *caviton*. (a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

C.3. Gambaran Histologi Kelompok Sampel yang Diberi Gel BAG lalu Ditumpat Sementara selama 3 Hari dengan Pewarnaan HE Perbesaran 400x



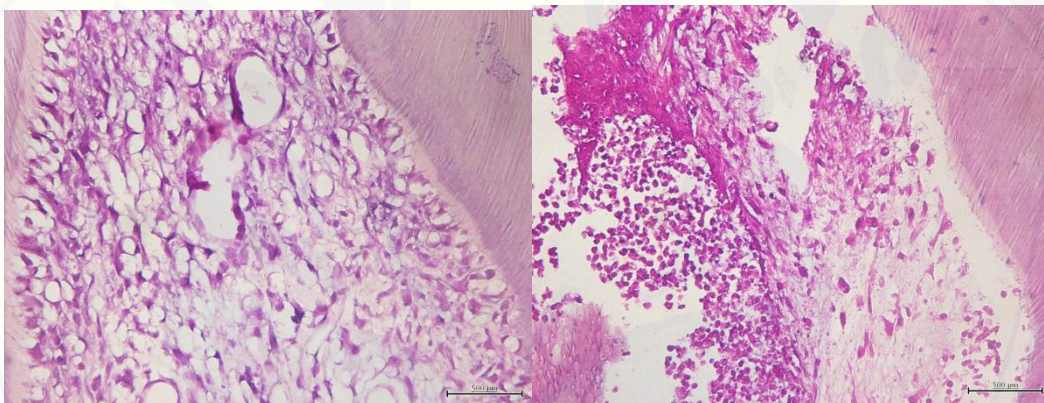
Keterangan: Gambaran histologi kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel BAG lalu ditumpat sementara (a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

C.4. Gambaran Histologi Kelompok Sampel yang Diberi Gel BAG lalu Ditumpat Sementara selama 7 Hari dengan Pewarnaan HE Perbesaran 400x



(a)

(b)



(c)

(d)

Keterangan: Gambaran histologi kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel BAG lalu ditumpat sementara (a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4



## Lampiran E. Surat Identifikasi Tanaman



**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.kr.purwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 1619 /IPH.06/HM/XI/2017

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

Nama : Rusella Try Setyowaty  
NIM : 141610101007  
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

An. Kepala  
Koleksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Bambang Budiharta, M.Sc, Ph.D

Lampiran F. Surat Ijin *Ethical Clearance*

|  |  |
|--|--|
|  <p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)<br/>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER<br/>(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH<br/>FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p> |  |
| <p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b><br/><u>No. 011/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>  |  |
| Title of research protocol   | : "Pengaruh Gel <i>Bioactive Glass Nanosilica</i> Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan"  |
| Document approved  | : Research Protocol  |
| Principal investigator   | : Rusella Try Setyawaty  |
| Member of research   | : -  |
| Responsible Physician  | : Rusella Try Setyawaty  |
| Date of approval   | : February 5 <sup>th</sup> , 2018  |
| Place of research  | : 1. Bioscience Laboratory Politeknik Negeri Jember<br>2. Biomedical Laboratory at Faculty of Pharmacy in Universitas Jember<br>3. Pharmaceutics Laboratory at Faculty of Pharmacy Universitas Jember<br>4. Anatomical Pathology Laboratory Medicine Faculty University of Brawijaya |
| <p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>  |  |
| <p>Jember, February 10<sup>th</sup>, 2018</p>  |  |
| <p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas<br/>Jember</p>  <p>(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)</p>  | <p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty<br/>of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M, SI.)</p>  |

## Lampiran G. Surat Ijin Pembuatan Preparat Histologi



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

Nomor : 0350 /UN25.8.TL/2017  
Perihal : Ijin Penelitian

24 JAN 2018

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Patologi Anatomi  
Fakultas Kedokteran 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                          | : Rusella Try Setyowaty   |
| 2  | NIM                           | : 141610101007  |
| 3  | Semester/Tahun                | : 2017/2018   |
| 4  | Fakultas                      | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                        | : Jl. Mastrip I Jember  |
| 6  | Judul Penelitian              | : Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan                  |
| 7  | Lokasi Penelitian             | : Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember   |
| 8  | <u>Alat/Data yg di pinjam</u> | : Parafin blok, mikrotom, dll   |
| 9  | Waktu                         | : Nopember 2017 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian             | : Untuk Mengetahui Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan |
| 11 | Dosen Pembimbing              | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes<br>2. drg. A. Gunadi, Ms.P.Hd   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan  
Wakil Dekan I,



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

Lampiran H. Surat Ijin Pembuatan *Bioactive Glass*

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

Nomor : 0579 /UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth  
Kepala Bagian 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                          | : Rusella Try Setyowaty   |
| 2  | NIM                           | : 141610101007  |
| 3  | Semester/Tahun                | : 2018/2018   |
| 4  | Fakultas                      | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                        | : Jl. Mastrip I Jember  |
| 6  | Judul Penelitian              | : Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan                    |
| 7  | Lokasi Penelitian             | : Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember  |
| 8  | <u>Alat/Data yg di pinjam</u> | : Furnace, oven, timbangan, gelas ukur, dll   |
| 9  | Waktu                         | : Nopember 2017 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian             | : Untuk Menganalisis Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan |
| 11 | Dosen Pembimbing              | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes<br>2. drg. HA. Gunadi, MS, Ph.D   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dekan  
Drs. Irena Susilawati, M.Kes  
NIP.196109031986022001

## Lampiran I. Surat Ijin Pembuatan Gel



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

Nomor : 0350 /UN25.8.TL/2017  
Perihal : Ijin Penelitian

24 JAN 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                          | : Rusella Try Setyowaty   |
| 2  | NIM                           | : 141610101007  |
| 3  | Semester/Tahun                | : 2017/2018   |
| 4  | Fakultas                      | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                        | : Jl. Mastrip I Jember  |
| 6  | Judul Penelitian              | : Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan                  |
| 7  | Lokasi Penelitian             | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember  |
| 8  | <u>Alat/Data yg di pinjam</u> | : Mortal, pastel, dll   |
| 9  | Waktu                         | : Nopember 2017 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian             | : Untuk Mengetahui Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan |
| 11 | Dosen Pembimbing              | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes<br>2. drg. A. Gunadi, Ms.P.Hd   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan  
Wakil Dekan I,  
  
drg. JDA Susilawati, M.Kes  
096109031986022001



## Lampiran J. Surat Ijin Perlakuan Hewan Coba



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

Nomor : 0350 /UN25.8.TL/2017  
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik  
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                          | : Rusella Try Setyowaty   |
| 2  | NIM                           | : 141610101007  |
| 3  | Semester/Tahun                | : 2017/2018   |
| 4  | Fakultas                      | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                        | : Jl. Mastrip 1 Jember  |
| 6  | Judul Penelitian              | : Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan                  |
| 7  | Lokasi Penelitian             | : Laboratorium Biomedik Faklutas Farmasi Universitas Jember   |
| 8  | <u>Alat/Data yg di pinjam</u> | : Timbangan tikus, kandang tikus, dll   |
| 9  | Waktu                         | : Nopember 2017 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian             | : Untuk Mengetahui Pengaruh Gel Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pulpa Tikus Wistar Jantan |
| 11 | Dosen Pembimbing              | : 1. drg. Izzata Barid, M.Kes<br>2. drg. A. Gunadi, Ms.P.Hd   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan 24 JAN 2018  
Wakil Dekan I,



Drg. drg. A Susilawati, M.Kes  
09031986022001