



**ANALISIS PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF OLEH
GEL BIOACTIVE GLASS NANOSILICA
DARI ABU AMPAS TEBU**

SKRIPSI

Oleh

**Meirsa Sawitri Hayyusari
NIM 141610101050**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes.
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros

Penguji :

Dosen Penguji Ketua : drg. Niken Probosari, M.Kes.
Dosen Penguji Anggota : drg. Izzata Barid, M.Kes.

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**ANALISIS PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF OLEH
GEL BIOACTIVE GLASS NANOSILICA
DARI ABU AMPAS TEBU**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Meirsa Sawitri Hayyusari

NIM 141610101050

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

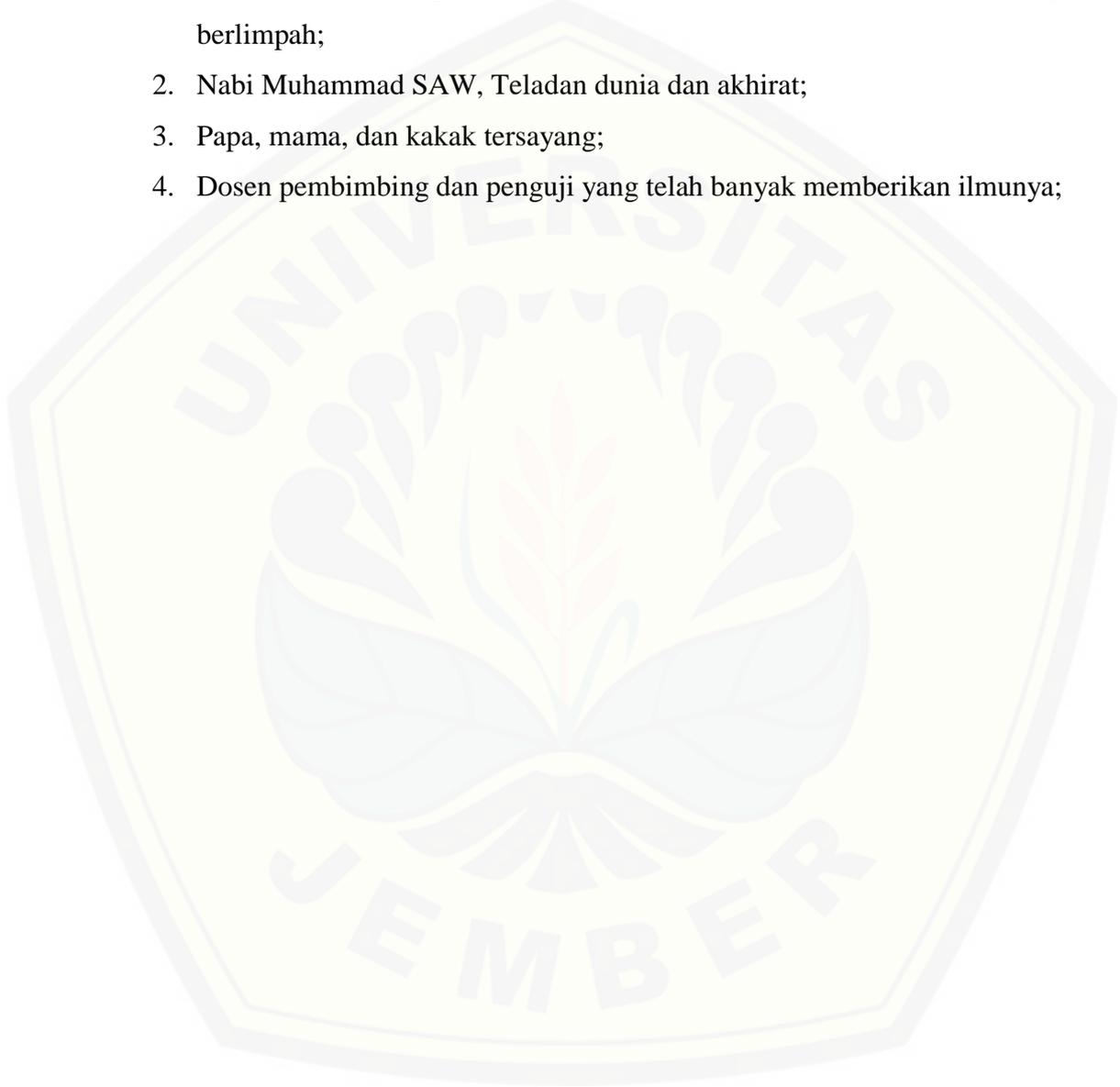
UNIVERSITAS JEMBER

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, berkah, dan kemudahan yang berlimpah;
2. Nabi Muhammad SAW, Teladan dunia dan akhirat;
3. Papa, mama, dan kakak tersayang;
4. Dosen pembimbing dan penguji yang telah banyak memberikan ilmunya;



MOTTO

“Nothing worth having comes easy”

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”^{*}).

“...Barangsiapa bertakwa kepada Allah niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar. Dan memberinya rezki dari arah yang tiada disangka-sangkanya. Dan barangsiapa yang bertawakkal kepada Allah niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya. Sesungguhnya Allah melaksanakan urusan yang (dikehendaki)Nya. Sesungguhnya Allah telah mengadakan ketentuan bagi tiap-tiap sesuatu.”^{**})

^{*}) HR. Ahmad, ath-Thabrani

^{**}) QS. Ath-Thalaq : 2-3

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Meirsa Sawitri Hayyusari

NIM : 141610101050

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Oleh Gel *Bioactive Glass Nanosilica* dari Abu Ampas Tebu” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang harus di junjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Maret 2018

Yang menyatakan

Meirsa Sawitri Hayyusari

NIM 141610101050

SKRIPSI



**ANALISIS PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF OLEH
GEL BIOACTIVE GLASS NANOSILICA
DARI ABU AMPAS TEBU**

Oleh

**Meirsa Sawitri Hayyusari
NIM 141610101050**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes.
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Oleh *Gel Bioactive Glass Nanosillica* Dari Abu Ampas Tebu” karya Meirsa Sawitri Hayyusari telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : Kamis, 22 Maret 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji Tim Penguji

Ketua, Anggota,

drg. Niken Probosari, M.Kes

NIP. 196702201999032001

Pembimbing Utama,

drg. Izzata Barid, M.Kes

NIP. 19680517199702200

Pembimbing Anggota,

Dr.drg. Didin Erma I, M.Kes

NIP. 196903031997022001

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

NIP. 1969011211996011001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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

NIP. 196901121996011011

RINGKASAN

Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Oleh Gel *Bioactive Glass Nanosilica* dari Abu Ampas Tebu; Meirsa Sawitri Hayyusari, 141610101050; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit gigi dan mulut yang paling banyak ditemukan di masyarakat luas yaitu karies gigi. Karies gigi dapat ditandai dengan proses demineralisasi progresif dan invasi bakteri pada lapisan dentin hingga pulpa gigi. Pulpa yang terkena jejas akan mengadakan reaksi pertahanan berupa pembentukan dentin reparatif. Pembentukan dentin reparatif dapat dirangsang dengan mengaplikasikan bahan pelindung sebagai bahan regenerasi yang dapat merangsang pelepasan *growth factors* sehingga menstimuli pembentukan dentin reparatif. Bahan yang belakangan ini sering digunakan dalam bidang kedokteran gigi karena potensinya untuk merangsang pembentukan dentin reparatif adalah *bioactive glass*. *Bioactive glass* merupakan suatu bahan yang dapat bereaksi dengan cairan tubuh untuk membentuk ikatan yang kuat dengan tulang dengan membentuk lapisan hidroksiapatit dan juga menginduksi pembentukan jaringan seperti odontoblas ketika diletakkan pada pulpa yang terbuka. *Bioactive glass* yang sering digunakan adalah *Bioactive glass sintesis* atau buatan pabrik yang dijual dengan harga yang relatif mahal namun belum beredar luas di Indonesia. Oleh karena itu, sebagai alternatif pengganti *bioactive glass sintesis* adalah *bioactive glass nanosilica* yang berasal dari bahan alami yaitu tebu. Pemanfaatan tebu yang masih kurang dan jarang dipergunakan terutama sisa pembakarannya yaitu abu *bagasse* yang berpotensi sebagai bahan baku pembuatan *bioactive glass nanosilica* karena kandungan *silica* yang tinggi pada abu *bagasse* tersebut. Tujuan dari penelitian mengetahui pembentukan dentin reparatif gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu yang diaplikasikan pada gigi tikus putih wistar jantan (*Rattus novergicus*).

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test with control group design*. Terdapat 2 kelompok

penelitian, yaitu: kelompok kontrol dilakukan pengeburan pada gigi M1 rahang atas kiri tikus (*Rattus novergicu*), dilanjutkan dengan ditumpat sementara menggunakan caviton dan kelompok perlakuan dilakukan pengeburan pada gigi M1 rahang atas kiri tikus (*Rattus novergicu*), dilanjutkan dengan pengaplikasian bahan gel *bioactive glass nanosillica*, selanjutnya analisis hasil secara histologis menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.

Data hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna ($p>0,05$) pada lebar pembentukan dentin reparatif antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Pembentukan dentin reparatif pada kelompok perlakuan menunjukkan lebar dentin reparatif yang lebih besar dari kelompok kontrol. Disimpulkan penambahan pengaplikasian bahan gel *bioactive glass nanosillica* dapat merangsang pembentukan dentin reparatif lebih besar daripada hanya ditumpat sementara menggunakan caviton.

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, shalawat dan salam saya kirimkan kepada Nabi Muhammad SAW, beserta para sahabat dan keluarga beliau yang telah memberikan tauladan dalam menjalani kehidupan di dunia dan di akhirat. Penyusunan skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW sebagai panutan dan tauladan dalam beribadah;
3. Orang tua tercinta, Bapak Tombak Pramudya Rosa dan Ibu Merwin Lusiani yang selalu mendoakan, mendukung dan bertanya kapan wisuda dalam kondisi apapun;
4. Kakak yang saya rindukan Mersa Bayu Wibisono yang selalu menjadi pendengar dan penasihat yang baik untuk adiknya;
5. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes selaku pembimbing utama dan drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes selaku pembimbing pendamping yang selalu sabar dan sangat telaten dalam membimbing saya;
7. drg. Niken Probosari, M.Kes selaku penguji utama dan drg. Izzata Barid, M.Kes selaku penguji pendamping yang selalu memberikan kritik dan saran yang membangun;
8. Jajaran staf pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Negeri Jember;
9. Sahabat seperjuangan dalam menyelesaikan skripsi, Darmawan, Yuniko, Umil, Erfika, Lady, Rusella, dan Nanik yang terkadang tengkar tapi sayang;

10. Sahabat yang selalu memotivasi dunia akhirat, Rusella, Dini, Nabilla, Nanik, Shinta, Arie, Lady, Umil dan Erfika;
11. Sahabat SMA, Jehan, Edena, Gegi dan Mega;
12. Sahabat penimba ilmu agama, Panji, Afis, Diba dan Dila yang selalu mengingatkan untuk istiqomah;
13. Sahabat ciaobelleci, Aldiansyah, Rudi, Nurqum, Kanwangwang, Annisa, Lady, Erfika, Silvi dan Umil;
14. Keluarga besar Lisma Jaya yang telah memberikan warna pada masa perkuliahan;
15. Sahabat KKN 68. Retno, Tari, Pras, Yogi, Rafli, Alfian, Dini, Laili, dan Devin;
16. Staf Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember;
17. Staf laboratorium Biosains Politeknik Jember;
18. Staf laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya;
19. Seluruh teman-teman FKG 2014. Terima kasih atas motivasi dan kerja samanya selama ini;
20. Untuk semua pihak yang terlibat namun belum bisa tercantum namanya;

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

Jember, 22 Maret 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN.....	v
HALAMAN JUDUL	vi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Dentin.....	5
2.1.1 Pengertian dentin.....	5
2.1.2 Komposisi dentin.....	5
2.1.3 Demineralisasi dan Remineralisasi Dentin	6
2.1.4 Proses Pembentukan Jembatan Dentin	6
2.1.5 Dentin Reparatif	7
2.2 Karies	10
2.3 Bioactive glass	11
2.4 Gel	15
2.5 Tebu	16
2.6 Pembuatan Preparat Histologi	18
2.6.1 Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)	21
2.7 Peta Konsep	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Rancangan Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23

3.3 Sampel Penelitian	23
3.3.1 Kriteria Sampel Penelitian.....	23
3.3.2 Besar Sampel.....	24
3.3.3 Jumlah Sampel	24
3.4 Variabel Penelitian	25
3.4.1 Variabel bebas	25
3.4.2 Variabel terikat.....	25
3.4.3 Variabel terkontrol	25
3.5 Definisi Operasional	25
3.6 Alat dan Bahan	26
3.6.1 Alat Penelitian	26
3.6.2 Bahan Penelitian.....	27
3.7 Prosedur Penelitian	28
3.7.1 Tahap Persiapan	28
3.7.2 Pembuatan prekursor silika berupa Natrium silika	29
3.7.3 Pembuatan <i>bioactive glass nanosilica</i>	32
3.7.4 Pembuatan gel <i>bioactive glass nanosilica</i> dengan basis CMC-Na.....	34
3.7.6 Tahap Perlakuan.....	36
3.8 Pengambilan sampel dan pembuatan sediaan preparat histologi	37
3.8.1 Pewarnaan preparat histologi.....	40
3.9 Analisis Data	41
3.10 Alur Penelitian	42
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Rata-rata lebar pembentukan dentin reparatif pada perbesaran 400x ... 43



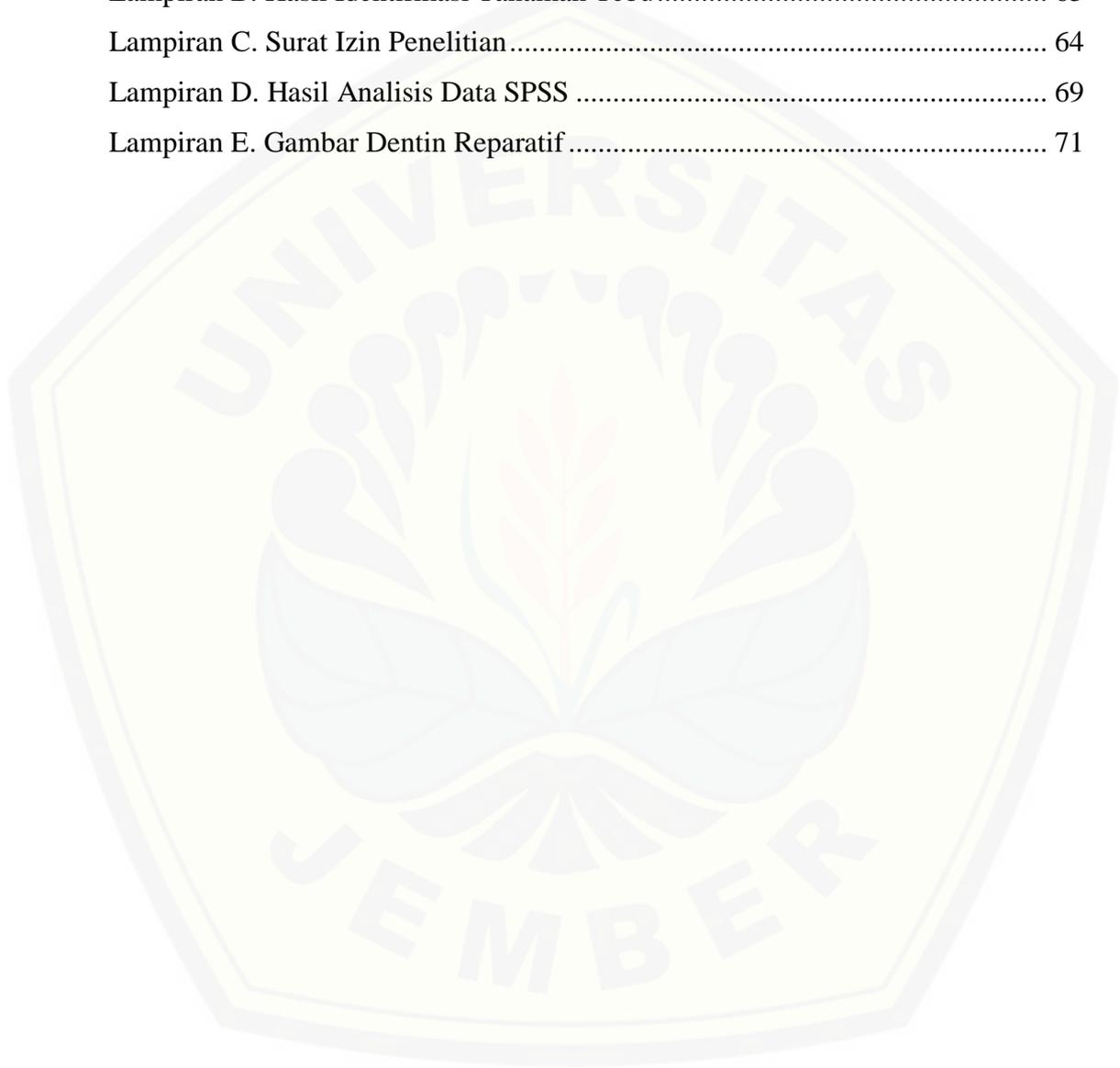
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Skema representasi formulasi dentin reparatif yang diinduksi oleh TGF- β ..	9
Gambar 2.2 Evaluasi efek dari BG dengan pewarnaan Hematoksin dan Eosin pada minggu ke 4.....	9
Gambar 2.3 Pembentukan dentin reparatif (RD) setelah 4 minggu.....	10
Gambar 2.4 Dentin reparatif.....	15
Gambar 2.5 Penampilan tanaman tebu.....	17
Gambar 2.6 Peta konsep.....	22
Gambar 3.1 Pembakaran ampas tebu dengan api.....	29
Gambar 3.2 Pembakaran abu ampas tebu dengan <i>furnance</i>	29
Gambar 3.3 Pengayakan abu ampas tebu dengan ayakan 200 mesh.	30
Gambar 3.4 Pengadukan abu ampas tebu dengan <i>magnetic sterer</i>	30
Gambar 3.5 Penyaringan abu ampas tebu dengan kertas saring.	31
Gambar 3.6 Pengeringan abu ampas tebu dengan oven selama 2 jam.....	31
Gambar 3.7 Penimbangan abu ampas dengan timbangan digital.	32
Gambar 3.8 Natrium silikat dalam bentuk powder.	32
Gambar 3.9 Natrium silikat yang telah dicampur	33
Gambar 3.10 Hasil pengeringan gel.	34
Gambar 3.11 Penimbangan bahan CMC-Na.....	34
Gambar 3.12 Pencampuran bahan dengan akuades.	34
Gambar 3.13 Penimbangan 5 gr bahan.	35
Gambar 3.14 Hasil pencampuran larutan CMC-Na	35
Gambar 3.15 Tikus yang teranestesi diposisikan terlentang	36
Gambar 3.16 Meretraksi pipi tikus dan dilakukan preparasi gigi	36
Gambar 3.17 Euthanasia hewan coba.....	37
Gambar 3.18 Pengambilan jaringan dengan memotong rahang atas.	38

Gambar 3.19	Jaringan difiksasi menggunakan larutan buffer formalin 10%....	38
Gambar 3.20	Tahap <i>embedding</i>	39
Gambar 3.21	Tahap penyayatan blok paraffin menggunakan mikrotom.....	39
Gambar 3.22	Pembilasan menggunakan air mengalir.	40
Gambar 3.23	Proses dehidrasi dengan alkohol.....	40
Gambar 3.24	Alur penelitian.....	42
Gambar 4.1	Histogram rata-rata lebar dentin reparatif caviton dan gel BAG dalam ukuran μm	44
Gambar 4.2	Gambaran histologis kelompok perlakuan pada hari ke-28 dengan perbesaran 100x dan 400x.....	44
Gambar 4.3	Gambaran histologis kelompok kontrol pada hari ke-28 dengan perbesaran 100x dan 400x.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Alat dan Bahan Penelitian	59
Lampiran B. Hasil Identifikasi Tanaman Tebu	63
Lampiran C. Surat Izin Penelitian	64
Lampiran D. Hasil Analisis Data SPSS	69
Lampiran E. Gambar Dentin Reparatif	71



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut yang paling banyak ditemukan di masyarakat luas yaitu karies gigi (Phradina dkk., 2016). Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, indeks karies Indonesia menunjukkan bahwa kerusakan gigi karena karies masih tinggi yaitu dengan 460 buah gigi per 100 orang. Karies gigi dapat ditandai dengan proses demineralisasi progresif dan invasi bakteri pada lapisan dentin hingga pulpa gigi (Ami, 2005; Kumala, 2006). Pulpa yang terkena jejas akan mengadakan reaksi pertahanan berupa dentin reparatif (Sabir, 2003).

Pembentukan dentin reparatif dapat dirangsang dengan mengaplikasikan bahan pelindung sebagai bahan regenerasi. Bahan tersebut dapat menginduksi pelepasan *growth factors* pada matriks dentin yang terkena injuri sehingga menstimuli sel progenitor untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi *odontoblast-like cells* (Octaria, 2015). *Odontoblast-like cells* tersebut akan membentuk matriks ekstraseluler (kolagen) untuk memineralisasi lapisan HCA (*hydroxy carbonate apatite*) sehingga dapat menutupi bagian gigi yang hilang (Rahaman, dkk., 2011; Dwiandhono dkk., 2016).

Bahan pelindung yang paling banyak dipakai saat ini adalah kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dan *mineral trioxide aggregate* (MTA) yang terbukti dapat merangsang pembentukan dentin reparatif. Secara klinis $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dapat melindungi dan menjaga vitalitas pulpa serta memiliki sifat antibakterial yang baik karena pHnya yang tinggi (Melisa dkk., 2011). Namun penggunaan yang terlalu lama menyebabkan bahan tersebut terlarut dalam cairan mulut, terbentuknya *tunnel* yang merupakan gangguan morfologi barrier dari jembatan dentin sehingga memudahkan terjadinya infeksi, dan pada dentin yang baru memiliki karakteristik yang porus (Melisa dkk., 2011; Benoist dkk., 2012; Gong dkk., 2014). Bahan MTA memiliki karakteristik penutupan dentin yang sempurna dibandingkan dengan $\text{Ca}(\text{OH})_2$, namun penggunaan MTA relatif susah dalam pengaplikasiannya, mahal dan berpotensi untuk mengubah warna dari jaringan gigi (Gong dkk., 2014; Nowicka dkk., 2015).

Bahan yang belakangan ini sering digunakan dalam bidang kedokteran gigi karena potensinya untuk merangsang pembentukan dentin reparatif adalah *bioactive glass*. *Bioactive glass* merupakan suatu bahan yang dapat bereaksi dengan cairan tubuh untuk membentuk ikatan yang kuat dengan tulang dan juga menginduksi pembentukan jaringan seperti odontoblas ketika diletakkan pada pulpa yang terbuka (Chen dkk., 2008). *Bioactive glass* sendiri terdiri dari *sillica* (Si), kalsium dan fosfat, sehingga mirip dengan hidroksiapatit tulang selain itu kandungan Si yang terdapat dalam *bioactive glass* akan menstimulasi regenerasi jaringan tiga kali lebih cepat dibanding dengan bahan yang tidak mengandung Si sehingga bagus untuk perbaikan tulang maupun sebagai bahan regenerasi (Farooq dkk., 2012; Juan dkk., 2016; Long dkk., 2017).

Bioactive glass saat ini banyak dikembangkan dengan ukuran nanopartikel karena memiliki sifat mekanik baik dan memiliki luas permukaan yang berkontak semakin banyak sehingga pembentukan HCA juga semakin banyak (Noraihan dkk., 2011; Jones, 2013). *Bioactive glass* umumnya memiliki sediaan berbentuk *powder*. Namun bahan *bioactive glass* memiliki kelarutan yang tinggi sehingga diatasi dengan penambahan basis gel *sodium-carboxy methyl cellulose* (CMC-Na). Sediaan gel merupakan sediaan yang paling mudah diaplikasikan dan saat diaplikasikan memiliki efek yang optimal karena struktur sediaan gel sendiri mudah berpenetrasi dengan baik, sehingga dapat langsung bereaksi saat terjadi pelepasan bahan (Wibowo dan Mulyono, 2010; Fujiastuti, 2015; Novitasari dkk., 2017).

Bioactive glass yang sering digunakan adalah *Bioactive glass sintetis* atau buatan pabrik yang dijual dengan harga yang relatif mahal, namun belum beredar luas di Indonesia. Oleh karena itu, sebagai alternatif pengganti *bioactive glass sintesis* adalah *bioactive glass nanosilica* yang berasal dari bahan alami yaitu tebu. Tebu termasuk komoditas perkebunan penting di Indonesia dengan produksi per tahun sekitar 25.500.00 juta ton. Pemanfaatan tebu selama ini hanya diambil sarinya saja untuk dijadikan gula, sedangkan sisanya atau limbahnya terbuang begitu saja atau hanya dipergunakan untuk bahan bakar saja. Hasil pembakaran limbah tebu dinamakan abu *bagasse* (Suhendarwati dkk., 2014).

Abu *bagasse* memiliki kandungan *silica* sebesar 50-70%, hal tersebut mirip dengan komposisi dari *bioactive glass* yang sebagian besar mengandung *silica*. Oleh karena itu *silica* dari *bioactive glass nanosilica* bisa didapatkan dari abu ampas tebu (abu *bagasse*) yang jumlahnya terbilang banyak dan kurang digunakan di Indonesia. *Silica* yang terdapat pada abu *bagasse* sangat berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan *bioactive glass nanosilica* (Panturau dan Setyawan, 2006; Yusuf, 2014).

Kandungan silika yang tinggi dapat merangsang proliferasi sel dan meningkatkan mineralisasi tulang (Kim dkk., 2015). Penelitian oleh Kaufmann (2000) menyatakan bahwa kandungan Si pada *bioactive glass nanosilica* dapat merangsang ekspresi beberapa gen yang berperan dalam proliferasi dan diferensiasi *odontoblast-like cells*, mempromosikan alkaline phosphatase (ALP) dan pembentukan kolagen tipe I yang berfungsi dalam pembentukan dentin reparatif. Berdasarkan penelitian oleh Wahyu (2013) menyebutkan bahwa penambahan bahan *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu dengan GI terbukti meningkatkan pembentukan *hydroxycarbonate apatite* (HCA). HCA tersebut akan termineralisasi dan membentuk dentin reparatif (Wang dkk., 2014).

Berdasarkan pemaparan diatas, peneliti perlu melakukan penelitian mengenai bahan gel *bioactive glass nanosilica* dari pengolahan abu ampas tebu untuk mengetahui pembentukan dentin reparatif.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana analisis lebar pembentukan dentin reparatif pada gigi tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diaplikasikan bahan gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu?

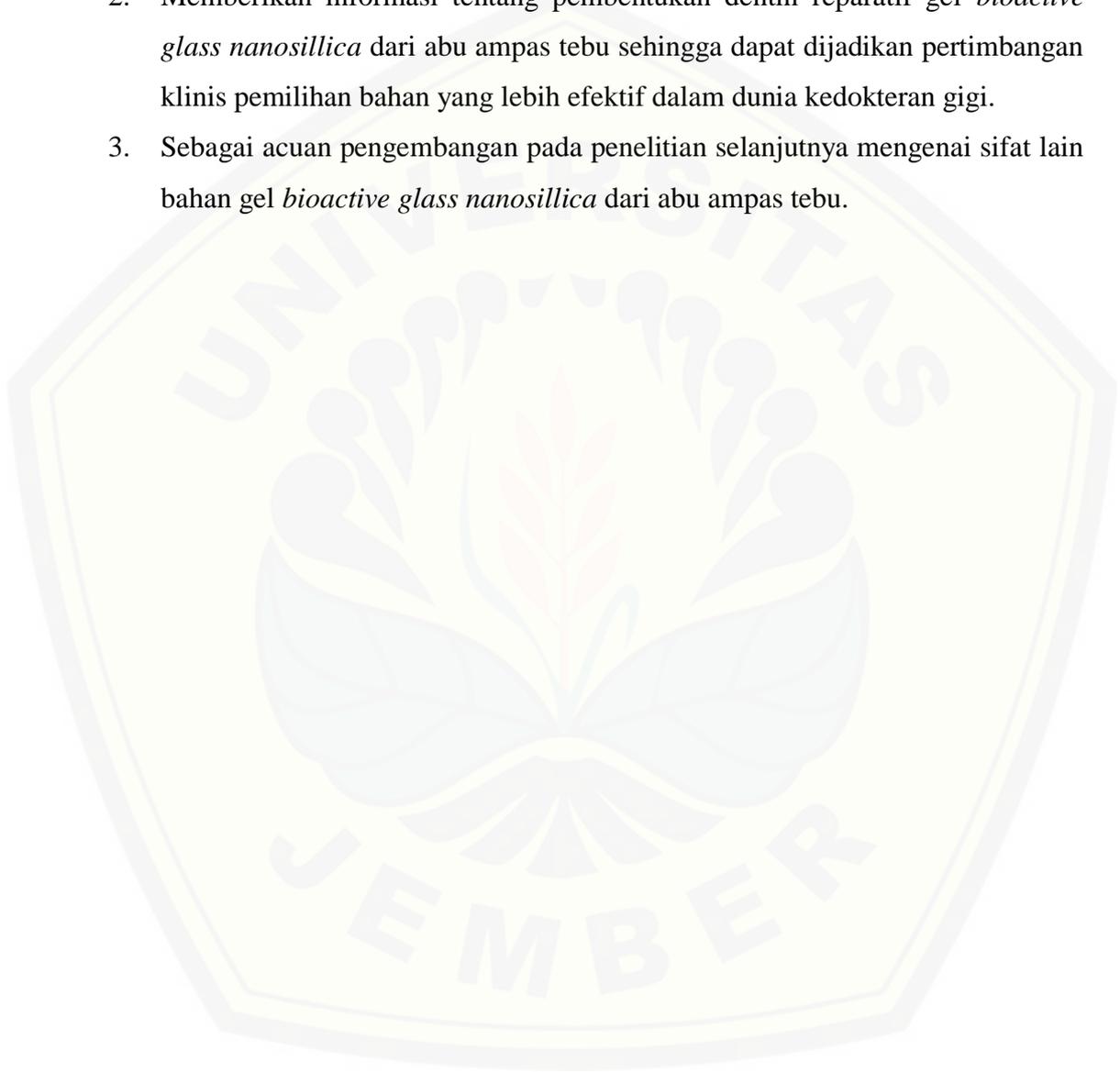
1.3. Tujuan Penelitian

Untuk menganalisis lebar pembentukan dentin reparatif gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu yang diaplikasikan pada gigi tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menghasilkan bahan *bioactive glass nanosilica* berbentuk gel dari abu ampas tebu sebagai bahan pilihan perawatan *pulp capping*.
2. Memberikan informasi tentang pembentukan dentin reparatif gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu sehingga dapat dijadikan pertimbangan klinis pemilihan bahan yang lebih efektif dalam dunia kedokteran gigi.
3. Sebagai acuan pengembangan pada penelitian selanjutnya mengenai sifat lain bahan gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dentin

2.1.1 Pengertian dentin

Dentin merupakan mineralisasi jaringan keras yang membentuk sebagian gigi dan terdiri dari tubulus-tubulus kecil yang tersusun sejajar. Tubulus dentin berisi perpanjangan sitoplasma odontoblas. Sel-sel odontoblas mengelilingi ruang pulpa dan kelangsungan hidupnya bergantung kepada penyediaan darah dan drainase limfatik jaringan pulpa. Oleh karena itu dentin dianggap menyatu dengan pulpa karena kedua jaringan itu terikat sangat erat satu sama lain (Edwina, 1991; Simon dkk., 2011). Odontoblas merupakan sel yang responsibel terhadap pembentukan dentin. Sel ini terlibat dalam proses pembentukan dentin melalui sintesis dan sekresi matriks protein kolagen dan non kolagen, serta dengan berpartisipasi dalam transfer Ca^{2+} dari sirkulasi ke dentin yang mengalami mineralisasi (Okumura dkk., 2005). Protein utama yang disintesis oleh odontoblas yang telah berdiferensiasi adalah kolagen tipe I, yang membentuk *scaffold* untuk deposisi mineral dan memberikan kekuatan pada dentin yang termineralisasi. Sementara itu dua protein utama non kolagen yang mempunyai kapasitas pengaturan mineralisasi adalah dentin *phosphophoryn* (DPP atau DMP-2) dan dentin *sialoprotein* (DSP) (Margono, 2012).

2.1.2 Komposisi dentin

Dentin terdiri dari kurang lebih 70% material inorganik 20% material organik berupa serabut kolagen terutama kolagen tipe I dan tipe V dalam jumlah sedikit dan 10% air. Kalsium dan fosfor merupakan material utama pada komponen inorganik (Lundeen dkk., 2000; Alauddin, 2004). Diantara dentin dan lapisan odontoblas terdapat predentin yang merupakan matriks organik dentin yang tidak mengandung mineral. Predentin mengandung kolagen tipe I dan II. Elemen non kolagen terdiri dari proteoglikan, glikoprotein, glikosaminoglikan, gla-protein dan fosforin yang merupakan molekul spesifik dengan fosforilasi yang tinggi yang

diproduksi oleh odontoblas dan dibawa ke daerah dentin yang bermineral (Trowbridge dkk., 2002).

2.1.3 Demineralisasi dan Remineralisasi Dentin

Demineralisasi yaitu hilangnya mineral dari email, dentin, dan sementum. Proses demineralisasi dimulai ketika bakteri spesifik melekat erat pada gigi dalam lapisan yang disebut dental plak atau biofilm dan terdedah terhadap karbohidrat dalam waktu yang cukup lama. Pembentukan biofilm plak menjadi pemicu proliferasi bakteri kariogenik dengan memproduksi asam hasil fermentasi karbohidrat sehingga mengakibatkan hilangnya mineral (Scheid, 2013). Asam ini menurunkan pH permukaan, menyebabkan menghilangnya kalsium dan fosfat dari enamel. Kehilangan mineral ini membahayakan struktur mekanik gigi dan dapat menyebabkan kavitas selama jangka waktu yang panjang (Alauddin, 2004). Semakin rendah pH maka akan meningkatkan ion hidrogen yang akan merusak hidroksiapatit email (Imran dkk., 2012).

Kehilangan unsur-unsur mineral pada gigi ini bersifat reversibel atau masih dapat kembali seperti semula melalui proses remineralisasi yang artinya pemasukan kembali mineral-mineral pada gigi yang hilang seperti ion kalsium, kalium, dan fluor (Adyatmaka, 2008). Kalsium dan fosfat akan berdifusi pada email yang mengalami demineralisasi dan menghambat penguraian hidroksiapatit dan menyebabkan terjadinya *rebuilding* atau pembangunan kembali sebagian kristal hidroksiapatit yang larut. Remineralisasi hanya dapat terjadi pada lingkungan dengan pH netral, terdapat ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} yang cukup pada lingkungan (Widyaningtyas dkk., 2014).

2.1.4 Proses Pembentukan Jembatan Dentin

Jembatan dentin adalah lapisan pertahanan yang dibentuk pada perawatan pulpotomi dan *pulp capping*. Pembentukan jembatan dentin dapat dibagi menjadi 4 tahap, yaitu : (1) Tahap eksudasi [1-5 hari setelah perawatan] ; (2) Tahap proliferasi [3-7 hari setelah perawatan]; dan (3) Tahap pembentukan dentin tubular [>14 hari setelah perawatan] (Yammamura, 1985). Menurut Koike (2014)

pada minggu keempat pembentukan dentin reparatif dapat terlihat jelas sudah terbentuk, hal ini mampu menjadi pertahanan utama dari pulpa setelah mengalami cedera.

Pada proses penyembuhannya diharapkan terjadi proses regenerasi. Regenerasi ini akan terjadi apabila jaringan ikat di bawah bahan tersebut dapat merangsang pembentukan jaringan baru. Regenerasi dan revaskularisasi bergantung pada keadaan apakah masih tersisa jaringan pulpa yang masih vital atau tidak, maka pada prinsipnya terdapat dua pendekatan untuk regenerasi dan revaskularisasi pulpa gigi, baik itu berupa perawatan pulpa vital atau regenerasi seluruh jaringan pulpa (Margono, 2012).

Keberhasilan dari perawatan pulpa vital memerlukan penutupan yang baik terhadap bakteri. Pemberian *growth factor* dan atau penggunaan *growth factor* yang ditanamkan dalam bahan restorasi merupakan komplemen yang baik untuk *pulp capping* vital. Bahan ini merupakan molekul fisiologis yang multipoten, bersifat meregulasi pertumbuhan dan perkembangan juga menginduksi penyembuhan luka dan regenerasi jaringan. Melalui mekanisme ikatan reseptor, transduksi sinyal dan aktivitas gen menimbulkan proliferasi gen dan sekresi dari matriks ekstraseluler menjadi dentin reparatif. Peningkatan ekspresi *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) secara intraseluler dan *collagenous extracellular matrix* (ECM) di dalam karies gigi diduga bahwa *growth factor* mempunyai peran penting dalam merespons adanya jejas dan perbaikan jaringan (Margono, 2012 ;Shirakawa dkk., 1994;About dkk., 2000).

Dentinogenesis merupakan suatu proses yang memerlukan peningkatan *collagenous extracellular matrix* (ECM), melalui proses mineralisasi. Sel-sel pulpa gigi dapat berperan dalam proses ini, dan protein dentin ECM secara aktif meningkatkan dan mengontrol mineralisasi dari serat kolagen dan pertumbuhan kristal apatit selama perubahan predentin menjadi dentin (Margono, 2012).

2.1.5 Dentin Reparatif

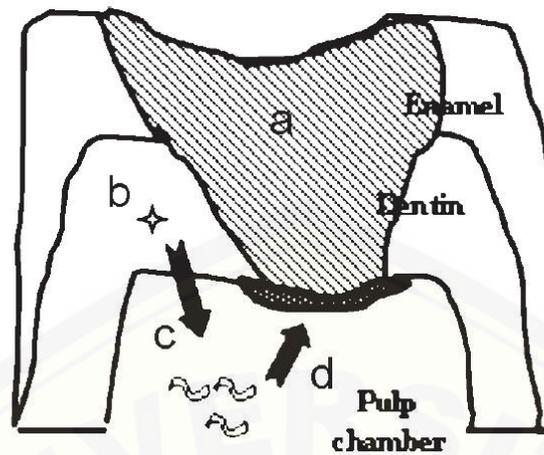
Dentin reparatif adalah matriks dentin tersier yang dieksresikan oleh sel *odontoblast-like cell* baru, untuk merespon stimulus yang kuat setelah terjadinya

kematian *odontoblast postmitotic* original yang bertanggung jawab atas sekresi dentin primer atau sekunder. *Odontoblast* merupakan sel yang tidak dapat *repair* setelah terkena jejas yang besar, sehingga fungsi *odontoblast* primer dalam merespon jejas besar yang mengakibatkan suatu kerusakan atau kematian, *odontoblast* akan digantikan oleh *odontoblast like cells* (Haniastuti, 2008).

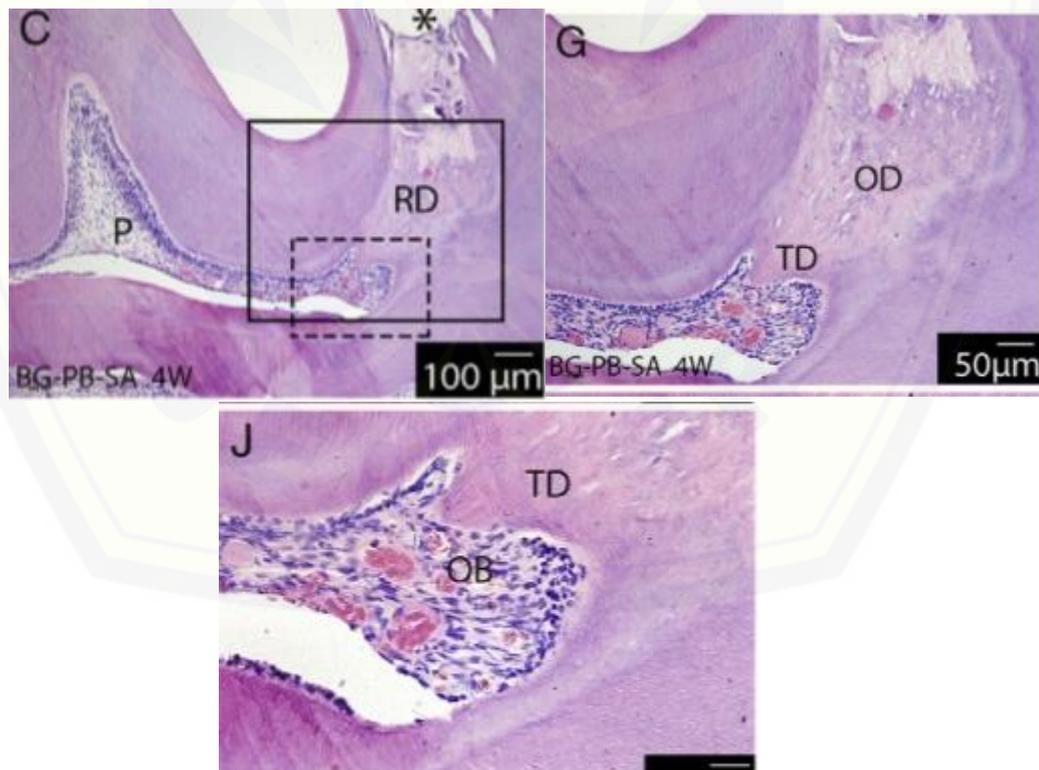
Respons dentin reparatif berada pada pulpa yang terekspos, hal ini karena hilangnya odontoblas dan diperlukan pembentukan jembatan dentin (*dentinal bridge*) pada daerah tersebut. Dentinogenesis reparatif melibatkan sequensi (lebih kompleks) kejadian biologik yang lebih langka dibandingkan dentinogenesis reaksioner, karena melibatkan sel progenitor dan adanya induksi diferensiasi dari *odontoblast-like cell* sebelum terjadinya sekresi matrix dentin reparatif. Salah satu yang berperan dalam dentinogenesis reparatif adalah *growth factor*, yang bertindak sebagai regulasi beberapa fungsi sel seperti proliferasi, diferensiasi dan sintesis matrix (Octiara, 2015).

Pada dasarnya *growth factor* akan dilepaskan pada matriks dentin sebagai kompensasi injuri jaringan dan prosedur restorasi. Pada kejadian karies, difusi asam dari metabolit bakteri yang masuk ke dalam jaringan gigi akan menyebabkan demineralisasi, dan pada keadaan ini akan dilepaskan komponen matriks ekstraseluler *soluble* termasuk *growth factor*. Komponen ini akan berdifusi pada pulpa secara langsung kemudian berinteraksi dengan sel. Kejadian demineralisasi akibat proses karies ini akan menyebabkan dilepasnya *growth factor* selama periode yang lama (Octiara, 2015).

Jika suatu rangsangan ringan dikenakan pada odontoblas untuk periode waktu yang panjang, seperti abrasi, dentin reparatif mungkin ditumpuk pada suatu kecepatan lebih lambat. Jaringan ini ditandai oleh tubuli yang agak tidak teratur. Sebaliknya, suatu lesi karies yang agresif atau suatu rangsangan mendadak lain akan merangsang produksi dentin reparatif dengan tubuli yang lebih sedikit dan lebih tidak teratur (Grossman, 1995). Apabila sudah terbentuk, dentin reparatif merupakan perlindungan tambahan bagi odontoblas dan sel-sel lain di dalam pulpa karena bertambahnya jarak antara pulpa dengan rangsangan yang merusak tersebut (Edwina, 1992).

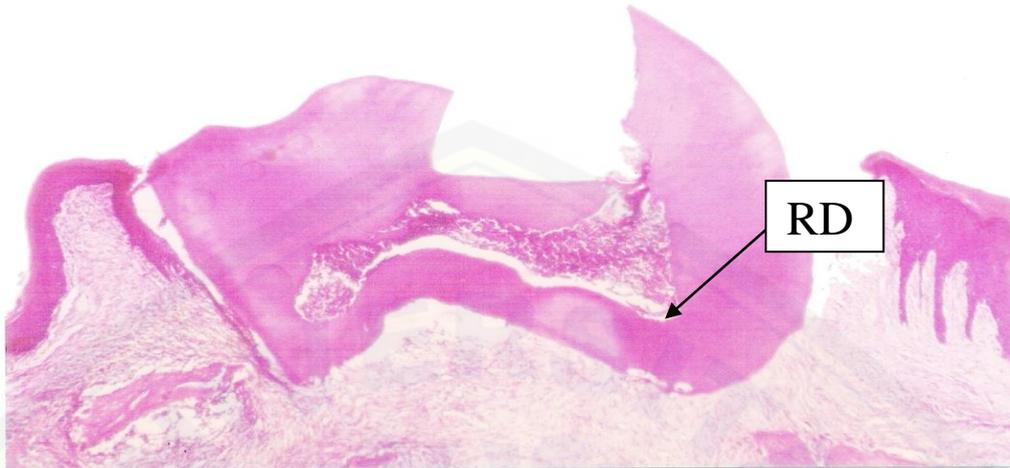


Gambar 2.1 Skema representasi formulasi dentin reparatif yang diinduksi oleh TGF- β . (A) Dentin terluka oleh lesi karies (B) Pelepasan TGF- β dari matriks dentin. (C) Proliferasi, migrasi dan diferensiasi *odontoblast-like precursor cell* menjadi *odontoblast-like cell*. (D). Deposisi dentin reparatif baru karena *odontoblast-like cell* (Haniastuti, 2008).



Gambar 2.2 Evaluasi efek dari BG dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin pada minggu ke 4 menunjukkan area berwarna hitam di dalam kotak dimana RD

adalah *reparative dentin* , TD adalah *tubular dentin*, OD adalah *osteodentin* , dan OB adalah *Odontoblast-like cell* (Long, 2017).



Gambar 2.3 Pembentukan dentin reparatif (RD) setelah 4 minggu dengan pewarnaan HE (Ardo, 2011).

2.2 Karies

Karies adalah suatu penyakit progresif yang reversibel (pada tahapan yang masih dini) dari jaringan keras gigi. Keadaan ini disebabkan oleh kerja bakteri atas karbohidrat yang dapat difermentasikan yang terdapat dalam *biofilm* plak di permukaan gigi. Bakteri ini menyebabkan terjadinya asam dan akan mendemineralisasi jaringan keras gigi yang akhirnya mengakibatkan terjadinya proteolisis dari komponen organik jaringan gigi (Banerjee, 2014).

Adapun penyebab karies yaitu bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacilli*. Bakteri spesifik inilah yang mengubah glukosa dan karbohidrat pada makanan menjadi asam melalui proses fermentasi. Asam terus diproduksi oleh bakteri dan akhirnya merusak struktur gigi sedikit demi sedikit (Pratiwi, 2007). 4 faktor utama penyebab karies yang saling berinteraksi, diantaranya host (gigi dan saliva), mikroorganisme, substrat serta faktor waktu. Keempat faktor ini saling berinteraksi dan saling mempengaruhi sehingga terjadi demineralisasi permukaan email yang selanjutnya bila interaksi tetap berlangsung akan terjadi karies (Suwelo, 1992).

Suatu lesi karies yang agresif atau suatu rangsangan mendadak lain akan merangsang pembentukan *odontoblast-like cell* (Grossman, 1995). Pembentukan

odontoblast-like cell yang banyak ini, sangat penting dalam proses pembentukan dentin reparatif yang merupakan perlindungan tambahan bagi odontoblas dan sel-sel lain di dalam pulpa karena bertambahnya jarak antara pulpa dengan rangsangan yang merusak tersebut (Kidd, 1992). Karies akan memicu aktivitas dari odontoblas untuk meningkatkan ekspresi TGF- β 1 yang akan dilepaskan ke dalam matrix. TGF- β 1 merupakan regulator penting dalam proliferasi dan diferensiasi sel pulpa selama proses perbaikan dan pembentukan dentin. Tahap diferensiasi menyebabkan sel progenitor dalam pulpa mengalami mitosis menjadi *odontoblast-like cells*, dan tahap tersebut dikarakteristikan dengan adanya peningkatan aktivitas kolagen tipe 1 dan alkaline phosphatase (ALP) yang berfungsi untuk mineralisasi dari dentin reparatif (Dwiandhono dkk., 2012). *Odontoblast-like cell* menghasilkan matriks ekstraseluler dan mineralisasi selama proses dentinogenesis reparative (Murray dkk., 2002).

2.3 Bioactive glass

2.3.1 Sejarah Bioactive Glass

Sekilas melalui sejarah perkembangan bahan yang digunakan dalam kedokteran gigi, khususnya bahan pengganti, menunjukkan bahwa tujuannya adalah untuk menciptakan bahan yang secara kimiawi inert. Pada pertengahan tahun 60-an, biokompatibilitas dan ketahanan jangka panjang material dapat dicapai dengan meminimalkan interaksi material-host. Bahan yang digunakan pada saat itu kebanyakan logam, ini menyebabkan korosi dan kegagalan disebabkan oleh kontak secara terus menerus dengan cairan tubuh. Hal ini menyebabkan pencarian bahan yang dapat bertahan terhadap cairan tubuh (Krishnan dan Lakshmi, 2013).

Selama periode tersebut, Profesor Hench menghasilkan bahan biokompatibel baru dengan menggunakan *sillica* (kaca) sebagai bahan dasar yang bisa dicampur dengan bahan lain seperti kalsium untuk menyatukan tulang yang retak. Ini meniru tulang normal dan merangsang pertumbuhan kembali tulang baru di antara fraktur. Dengan menggunakan bahan ini, tren bahan implan digeser untuk merangsang kemampuan regeneratif tubuh. Bahan *glass* baru ini dilarutkan, di

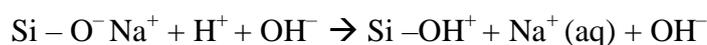
lingkungan fisiologis normal, mengaktifkan gen yang mengendalikan osteogenesis dan produksi faktor pertumbuhan (Dalam 48 jam) dengan tulang menghasilkan kualitas setara dengan tulang alami. Setelah implantasi bahan ini di jaringan tulang, bahan *glass* ini tidak bisa dilepas dari lokasi implan "terikat pada tulang" Hench menggunakan istilah "*Bioactive Glass*" untuk menggambarkan keterikatan ini (Krishnan dan Lakshmi, 2013).

Bahan bioaktif didefinisikan sebagai bahan yang menghasilkan respons biologis spesifik pada antarmuka material, yang menghasilkan pembentukan ikatan antara jaringan dan material. Keuntungan lain dari *bioglass* atas hidroksiapatit sintesis adalah fiksasi biologis, dan kemampuan ikatan ke jaringan keras dan lunak, sedangkan hidroksiapatit hanya mengikat pada jaringan keras dan juga memerlukan penutup eksogen untuk menahan implan (Krishnan dan Lakshmi, 2013).

2.3.2 Komposisi Bioactive Glass

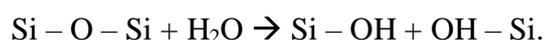
Komposisi *bioglass* asli (45S5) adalah sebagai berikut: 45% *silica* (SiO_2), 24,5% kalsium oksida (CaO), natrium oksida 24,5% (Na_2O), dan pentoksida fosfor 6% (P_2O_5) dalam persentase berat. Bahan *bioglass* terdiri dari mineral yang terjadi secara alami di dalam tubuh (SiO_2 , Ca, Na_2O , H, dan P), dan proporsi molekul kalsium dan fosfor oksida sama dengan yang ada di tulang (Krishnan dan Lakshmi, 2013). Mekanisme penyembuhan tulang oleh *bioactive glass silica* terdiri dari:

1. Ion Na^+ dan/ Ca^+ yang berasal dari bahan *bioactive glass silica* bereaksi dengan ion 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 OH^-)

2. Peningkatan pH akan menyebabkan silika 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 (Ca^{2+}) dan fosfat (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).

2.3.3 Nanoteknologi *Bioactive Glass*

Nanosilica merupakan partikel *silica* yang disintesis dalam ukuran yang berbeda, yaitu antara 50 nm sampai 1 μm (Stanley dan Nesara, 2014). Besar kecilnya ukuran dari suatu partikel akan mempengaruhi kecepatan gerakannya, di mana semakin kecil ukuran partikel maka semakin cepat gerakannya (Sumardjo, 2009). Dalam bidang pengobatan ukuran nano yang lebih efektif dan lebih mudah berdifusi ke dalam sel dan merangsang perbaikan sel (Jones, 2013).

Oleh karena ukurannya sangat kecil, pengaplikasiannya dalam kedokteran gigi memberikan keuntungan berupa opasitas yang tidak berpigmen seperti komposit sehingga menghasilkan estetika baik dan juga sifat mekanik yang baik karena memiliki kekuatan adhesi yang baik (Noraihan dkk., 2011). *Nanosilica* memiliki kestabilan yang sangat baik, *inert* secara kimia, dan bersifat biokompatibel yang mampu bekerja selaras dengan sistem kerja tubuh (Fernandez, 2012). *Nanosilica* umumnya disintesis menggunakan metode sol-gel dari bahan baku TEOS (*tetraethyl orthosilicate*) dengan penambahan pelarut beserta katalis (Andreas dkk., 2016).

Metode sol – gel adalah metode pembentukan senyawa anorganik melalui reaksi kimia (hidrolisis dan kondensasi) dalam larutan pada suhu rendah. Metode

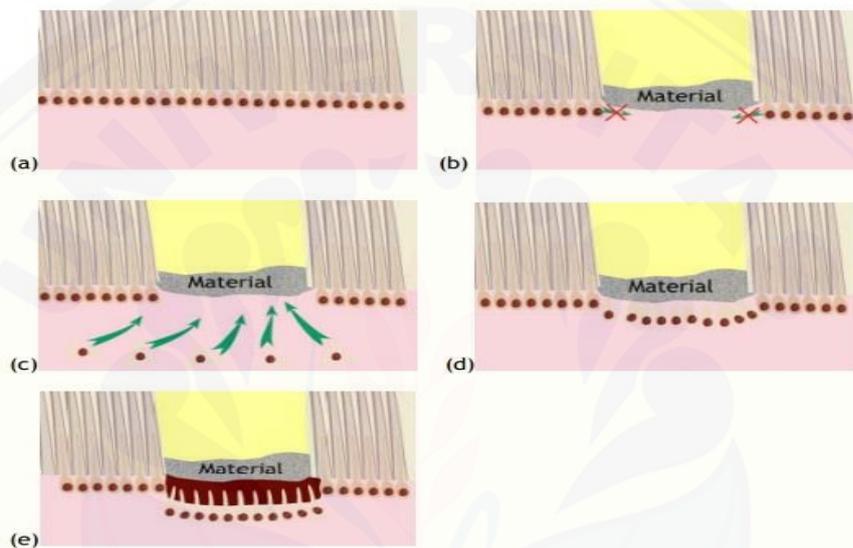
ini merupakan metode yang banyak digunakan karena prosesnya berlangsung pada temperatur rendah, lebih mudah, dan menghasilkan produk dengan kemurnian dan kehomogenan yang tinggi. Apabila dibandingkan dengan metode pemanasan tradisional, metode sol-gel di proses dengan temperatur rendah dan lebih dapat mengontrol komposisinya (Jahanshashi dkk., 2009). Metode sol-gel dikenal sebagai salah satu metode sintesis nanopartikel yang cukup sederhana dan mudah (Phumying dkk., 2013). Sebagai tambahan dengan menggunakan metode sol-gel menunjukkan bahan yang lebih *bioactive* dan *biodegradabel* dan juga memiliki potensi sebagai aplikasi sebagai bahan pengisi khusus secara *in situ* pada regenerasi jaringan. Telah terbukti juga bahwa terjadi peningkatan tingkat pertumbuhan lapisan seperti apatit serta bioaktivitas yang lebih luas yang diamati tergantung pada komposisi yang digunakan untuk pembuatan *bioglass* dengan metode sol-gel (Jahanshashi dkk., 2009).

Pembuatan *bioactive glass nanosilica* dengan metode sol-gel dilakukan dengan cara mencampurkan 5 gram natrium silikat, 15 ml akuades, 2.5 ml etanol dan tetesan HNO₃ 2M dalam sebuah tabung erlenmayer. Tabung tersebut diletakkan pada alat pengaduk magnet untuk mengaduk campuran secara otomatis selama 1 jam agar terjadi proses hidrolisis secara sempurna. *Phosporus pentoxide* (0.5 gram) selanjutnya ditambahkan dalam campuran dan terus diaduk selama 45 menit. Reagen selanjutnya, kalsium nitrat tetrahidrat sebanyak 4.1 gram pun ditambahkan dalam campuran dan terus diaduk selama 105 menit. Hasil dari adukan campuran tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 5 hari, dikeringkan dalam oven bersuhu 60⁰ C selama 3 hari, dan pengeringan akhir di dalam furnace bersuhu 200⁰ C (40 jam), 600⁰ C (5 jam), 800⁰ C (3 jam), dan 1000⁰ C (2 jam) (Adams dkk., 2013).

2.3.4 Pembentukan Dentin Reparatif oleh *Bioactive Glass*

Setelah terjadinya pemaparan pada pulpa, dan setelah penempatan bahan yang sesuai, jembatan dentin terbentuk dalam beberapa minggu oleh sel-sel mirip odontoblas (Gambar 2.4) (Smith dan Lesot, 2001; Mitsiadis dan Rahiotis, 2004). Menurut Yu C (2007) jejas ringan hingga sedang terbukti merangsang

pembentukan dentin reparatif setelah odontoblas primer mati sehingga akan menstimuli proliferasi dan difensiasi dari *odontoblast-like cell* untuk membentuk dentin reparatif (Femiano dkk., 2014). Penelitian oleh Long (2017) yang menyatakan bahwa jembatan dentin terbentuk pada minggu ke 4 setelah pengaplikasian *bioactive glass* yang secara histologis terlihat tubulus yang ireguler pada daerah tersebut. Pembentukan dentin reparatif yang termineralisasi rata-rata terbentuk pada hari ke-21 hingga 30 (Femiano dkk., 2014).



Gambar 2.4 Dentin reparatif. Berlawanan dengan jaringan ikat konvensional, proses penyembuhan di lapisan odontoblastik tidak terjadi oleh pembelahan sel lainnya Odontoblast di tepi luka (a dan b). Daya tarik dan diferensiasi dari sel baru menjadi sel sekresi dentin (c) menginduksi pembentukan jembatan dentin dengan bahan yang sesuai (e).

2.4 Gel

2.4.1 Pengertian Gel

Gel merupakan sistem semipadat yang pergerakan medium pendispersinya terbatas oleh sebuah jalinan jaringan tiga dimensi dari partikel-partikel atau makromolekul yang terlarut pada fase pendispersi (Allen, 2002). Gel dianggap sebagai dispersi koloid karena masing-masing mengandung partikel dengan ukuran koloid (Ansel, 1989).

2.4.2 Keuntungan Sediaan Gel

Bentuk gel mempunyai beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, memberikan rasa dingin di kulit, struktur gel yang mudah berpentasi dengan baik dan mudah mengering membentuk lapisan film yang mudah dicuci. Konsentrasi bahan pembentuk gel yang dibutuhkan hanya sedikit untuk membentuk massa gel yang baik. Viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan dan pelepasan obatnya baik (Lachman dkk., 1989; Fujiastuti, 2015; Novitasari dkk., 2017).

Sediaan gel yang baik dapat diperoleh dengan cara memformulasikan beberapa jenis bahan pembentuk gel, namun yang paling penting untuk diperhatikan adalah pemilihan *gelling agent*. *Gelling agent* bermacam-macam jenisnya, biasanya berupa turunan dari selulosa seperti metil selulosa, *carboxy metil selulosa* (CMC), *hidroxy propil methyl celulosa* (HPMC), dan ada juga yang berasal dari polimer sintetik seperti carbopol (Fujiastuti, 2015).

Carboxy methyle cellulose Sodium (CMC-Na) merupakan salah satu *gelling agent* yang digunakan sebagian besar sebagai sediaan formulasi semisolid dalam bidang farmasi sebagai bahan pensuspensi atau penambah kekentalan. CMC-Na digunakan karena memiliki viskositas yang stabil, berwarna putih-krem, tidak berbau dan berasa (Lieberman dkk., 1996).

2.5 Tebu

2.5.1 Pengertian Tebu

Tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan tanaman yang berasal dari Guinea. Tanaman ini termasuk ke dalam kelompok Gramineae (rumput-rumputan). Tebu merupakan tanaman dengan aktifitas fotosintesis yang tertinggi (aktifitasnya bila dibandingkan dengan tanaman lainnya sekitar 15-20%). Tanaman tahunan yang terus tumbuh dengan memiliki kemampuan adaptasi yang baik. Tumbuh dengan tinggi antara 3-5 meter dan mengandung sukrosa antara 11-16% (Augstburger dkk., 2000).

Klasifikasi ilmiah dari tanaman tebu adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Subkelas	: <i>Commelinidae</i>
Ordo	: <i>Cyperaceae</i>
Famili	: <i>Poaceae</i>
Genus	: <i>Saccharum</i>
Spesies	: <i>Saccharum officinarum L</i> (LIPI, 2017).



Gambar 2.5 Tanaman tebu (Koleksi pribadi, 2017)

Tebu merupakan tanaman berbiji tunggal atau monokotil, stuktur sejajar dan berakar serabut. Tinggi tanaman tebu rata – rata 2, 5 meter sampai 5 meter. Tiap – tiap tebu besarnya tidak sama, ada yang sebesar lengan dan ada yang sebesar tongkat. Warnanya juga berbeda – beda dari kuning, ungu dan merah tua. Batang tebu mulai dari pangkal sampai ujung mengandung air gula berkadar sampai 20% (Soejardi, 1985).

Tebu termasuk komoditas perkebunan penting di Indonesia. Perkebunan tebu berkaitan erat dengan industri gula dan produk derivat tebu. Indonesia merupakan daerah yang cocok untuk tanaman tebu, karena iklim yang hadir di Indonesia sangat cocok untuk kebutuhan pertumbuhan tebu, karena tebu membutuhkan musim hujan pada saat penanaman dan sedikit hujan saat proses pemanenan.

2.5.2 Ampas Tebu

Ampas tebu adalah suatu residu dari proses penggilingan tanaman tebu (*Saccharum oicinarum*) setelah diekstrak atau dikeluarkan niranya pada industri pembuatan gula sehingga diperoleh hasil samping sejumlah besar produk limbah berserat yang dikenal sebagai ampas tebu (*bagasse*). Pada proses penggilingan tebu, terdapat lima kali proses penggilingan dari batang tebu sampai dihasilkan ampas tebu (Purnawan dkk., 2012).

Menurut data FAO tahun 2006 tentang negara-negara produsen tebu dunia, Indonesia menduduki peringkat ke-11 dengan produksi per tahun sekitar 25.500.000 juta ton dan Jawa Timur menduduki peringkat pertama dengan total kontribusi sebesar 69,5% terhadap produksi gula apabila dibandingkan dengan provinsi lain di Pulau Jawa. Pemanfaatan tebu umumnya hanya diambil sarinya untuk dijadikan gula, sedangkan ampasnya (*bagasse*) belum dimanfaatkan secara optimal (Purnawan dkk., 2012; Apriawan dkk., 2015). Ampas tebu (*bagasse*) sebagian besar digunakan sebagai bahan bakar ketel (*boiler*) yang menghasilkan limbah hasil pembakaran berupa abu ampas tebu (Suhendarwati dkk., 2014).

Abu ampas tebu yang dihasilkan harus dilakukan pembakaran kembali dengan suhu 600°C sehingga abu ampas tebu yang semula berwarna hitam karena masih mengandung karbon berubah warna menjadi cokelat agak kemerahan dimana dalam keadaan ini abu ampas tebu memiliki kandungan silika yang tinggi (Rompas, 2013). Kandungan *silica* yang terdapat pada abu *bagasse*, yaitu lebih dari 50-70% sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan *bioactive glass nanosilica* (Panturau dan Setyawan, 2006; Yusuf dkk., 2014).

2.6 Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi dibutuhkan bahan utama berupa jaringan segar yang difiksasi dalam larutan formalin 10%. Perendaman jaringan dalam zat-zat kimia berfungsi sebagai baha pengawet agar terhindar dari pencemaran jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel (Muntiha, 2001). Dilanjutkan dengan dilakukan dekalsifikasi dengan memakai

asam formiat 10%. Larutan dekalsifikasi yaitu larutan yang berfungsi untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sebelum pemotongan sehingga tulang menjadi lunak, selain itu juga untuk memudahkan pemotongan (Kurnia dkk., 2015). Setelah itu dilakukan pemrosesan jaringan melalui beberapa tahap yaitu :

a. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan langkah ke dua dalam pemrosesan jaringan yang bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Ada beberapa macam cairan yang dapat dipakai untuk proses dehidrasi yaitu alkohol, sukrosa 20% dan metil alkohol atau spiritus (Jusuf, 2009).

b. *Clearing*

Pembeningan atau *clearing* adalah suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Jaringan tidak dapat langsung dimasukkan ke dalam parafin karena alkohol dan parafin tidak bisa saling melarutkan. Proses mengeluarkan alkohol dari jaringan ini sangat krusial karena bila di dalam jaringan masih tertinggal sedikit alkohol maka parafin tidak bisa masuk ke dalam jaringan sehingga jaringan menjadi “ matang diluar, mentah di dalam” dan akan menyebabkan jaringan menjadi sulit untuk dipotong dengan mikrotom. Bahan atau reagen pembening yang paling sering dipakai adalah *chloroform*, *benzene/benzol*, *xylene/xylol*, *cedar wood oil*, *benzil benzoat*, *methyl benzoat* (Jusuf, 2009).

c. *Embedding/Impregnasi*

Pembenaman (*impregnasi*) adalah proses untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing agent*) dari jaringan dan diganti dengan parafin. Pada tahap ini jaringan harus benar-benar bebas dari cairan pembening karena sisa cairan pembening dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan

mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek. Zat pembedam (*impregnasi agent*) yang dipakai adalah parafin cair panas yang mempunyai temperatur lebur (*Melting temperature*) kira-kira 56-59 °C, parafin histotek khusus (*Tissue mat*) dengan suhu 56°C dan paraplast yaitu campuran parafin murni dengan beberapa polimer plastik. Keuntungan memakai parafin dengan titik lebur rendah adalah jaringan tidak mudah menjadi rapuh/garing. Parafin dengan titik lebur rendah biasanya dipakai untuk jaringan embrional. Keuntungan memakai paraplast adalah sifat parafinnya lebih elastis sehingga tidak mudah sobek ketika dipotong dengan mikrotom dan dapat dipotong lebih mudah (Jusuf, 2009).

d. Pengecoran/*Blocking*

Pengecoran (*Blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom (Jusuf, 2009).

e. Pemotongan/*Mounting*

Pemotongan (*Mounting*) adalah proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom. Sebelum melakukan pemotongan serangkaian persiapan yang harus dilakukan adalah:

1. Persiapan pisau mikrotom

Pisau mikrotom harus diasah sebelum dipakai agar jaringan dapat dipotong dengan baik dan tidak koyak sehingga didapatkan jaringan yang baik. Pisau mikrotom kemudian diletakan pada tempatnya di mikrotom dengan sudut tertentu. Rekatkan blok parafin pada holder dengan menggunakan spatula atau scalpel. Letakkan tempat duduk blok parafin beserta blok preparat pada tempatnya pada mikrotom.

2. Persiapan Kaca Objek

Kaca objek yang akan direkatkan preparat harus telah dicoated (disalut) dengan zat perekat seperti albumin (putih telur), gelatin atau tespa.

3. Persiapan *Waterbath* atau wadah berisi air hangat dengan temperatur 37-40°C.

4. Persiapan sengkeli atau kuas.

f. Pewarnaan/*Staining*

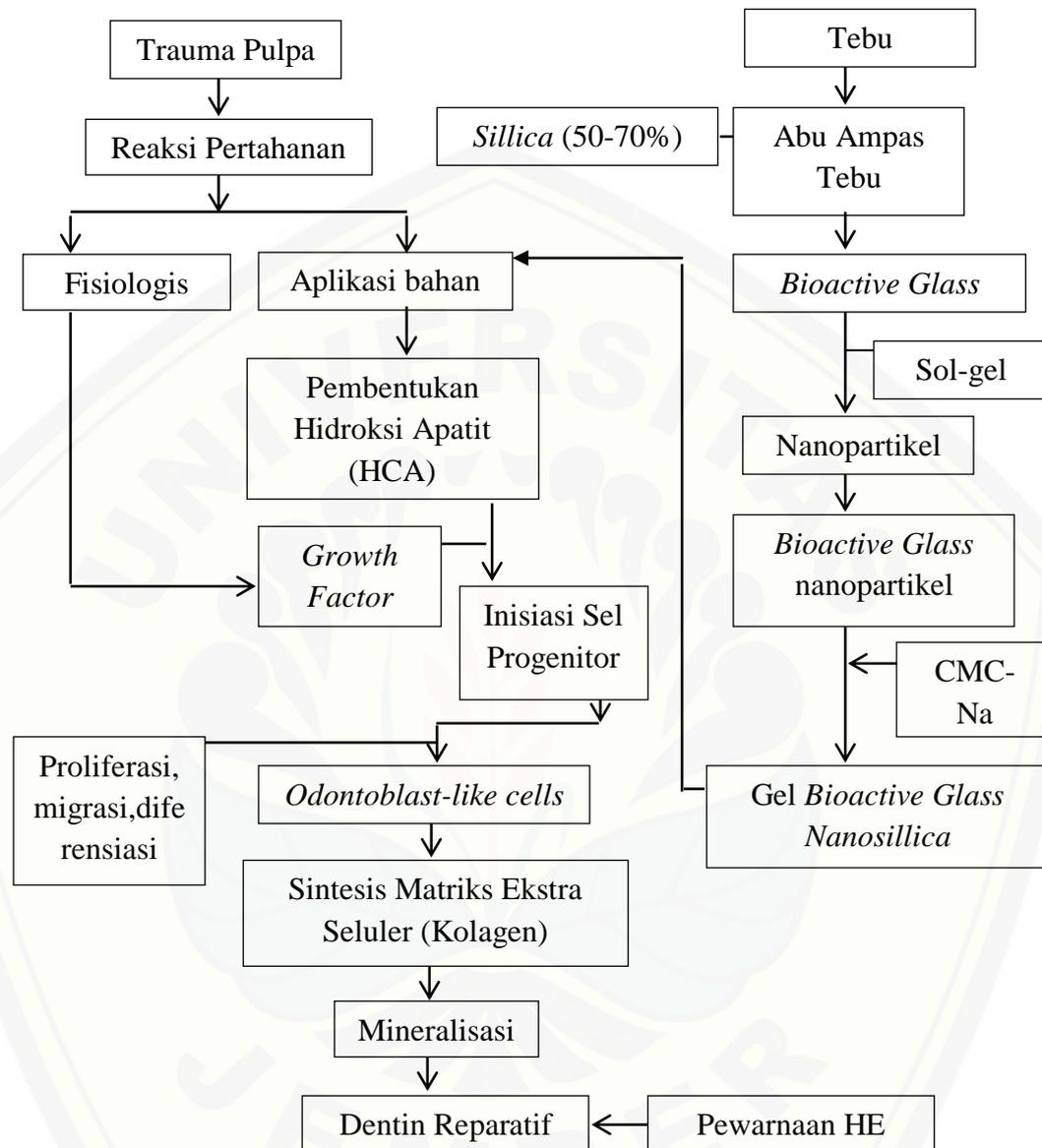
Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali / diamati dengan mikroskop. Proses timbulnya warna terkait dengan terjadinya ikatan antara molekul tertentu yang terdapat pada daerah dan struktur jaringan yang tertentu. Sinar dengan panjang gelombang tertentu yang terdapat dalam sinar yang berasal dari cahaya matahari atau lampu mikroskop yang dipaparkan pada sajian yang telah diwarnai akan diabsorpsi (diserap) atau diteruskan. Zat warna yang terikat pada jaringan akan menyerap sinar dengan panjang gelombang tertentu sehingga jaringan tersebut akan tampak berwarna. Pelarut yang umum dipakai dalam proses pewarnaan adalah air dengan derajat keasaman yang netral (pH 7) (Jusuf, 2009).

2.6.1 Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)

Pulasan (pewarna) yang sering digunakan secara rutin adalah pewarnaan yang dapat digunakan untuk memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pulasan hematoksilin-eosin (HE). Pada pulasan HE digunakan 2 macam zat warna yaitu hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan *counterstaining* hematoksilin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda (Jusuf, 2009).

Beberapa larutan hematoksilin yang digunakan adalah Hematoksilin Mayer. Pulasan ini banyak dipakai dengan beberapa pertimbangan yaitu differensiasi warna sangat jelas, mewarnai inti sel dengan baik dan jelas dengan background yang tidak bewarna, hasil konsisten, prosedurnya sederhana dan dapat mewarnai preparat yang difiksasi dengan fiksasi apapun juga. Hasil/ Interpretasi berupa inti sel bewarna biru dan sitoplasma bewarna kemerahan dengan adanya beberapa variasi warna pada komponen tertentu (Jusuf, 2009).

2.7 Peta Konsep



Gambar 2. 6 Peta konsep

2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah penggunaan gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu sebagai bahan regenerasi dapat membentuk dentin reparatif.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilakukan pada hewan uji secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *the post test with control group design*, yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan lalu hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Setyanto, 2015).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember.
- b. Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Negeri Jember.
- c. Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Negeri Jember.
- d. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2017.

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Kriteria Sampel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan 8 ekor tikus wistar jantan (*Rattus novargicus*). Kriteria sampel tikus wistar jantan pada penelitian ini sebagai berikut:

- a. Berat badan 200-250 gr merupakan berat badan ideal bagi tikus untuk dilakukan percobaan.
- b. Jenis kelamin jantan karena tikus jantan dalam penelitian ini untuk menghindari adanya kemungkinan variasi hormonal yang terjadi pada tikus wistar jenis betina.
- c. Berusia 2-3 bulan merupakan umur ideal untuk melakukan regenerasi.

- d. Molar pertama rahang atas karena didasarkan atas pertimbangan bahwa struktur dan bentuk anatomi gigi tikus tersebut mirip dengan gigi molar manusia. Selain itu, kecepatan atrisi akibat mastikasi pada permukaan oklusal gigi molar tikus lebih lambat dibandingkan dengan permukaan insisal gigi insisivus tikus
- d. Keadaan umum tikus baik (warna bulu putih bersih, mata tikus merah normal).

3.3.2 Besar Sampel

Menurut Daniel (2005), penentuan sampel menggunakan rumus 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 minimum

σ = Standart 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, sampel yang dibutuhkan untuk mengetahui kemampuan merangsang pembentukan dentin reparatif pada *bioactive glass nanosilica* adalah sebanyak 4 sampel.

3.3.3 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 8 ekor tikus wistar jantan (*Rattus novargicus*), yang dibagi menjadi 1 kelompok perlakuan dan 1

kelompok kontrol secara acak dengan jumlah tiap kelompok adalah 4 ekor tikus dengan sampel per kelompoknya adalah 4 sampel.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

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

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pembentukan dentin reparatif pada pulpa gigi tikus wistar jantan.

3.4.3 Variabel terkontrol

- a. Hari tikus yang akan dikorbankan, yaitu pada hari ke- 28.
- b. Jenis tikus yaitu Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*).
- c. Usia tikus 2-3 bulan.
- d. Cara preparasi gigi molar tikus wistar.
- e. Jenis tebu yang digunakan adalah *Saccharum officinarum L.*
- f. Prosedur pembuatan *bioactive glass nanosilica*.
- g. Cara pengaplikasian *bioactive glass nanosilica*.

3.5 Definisi Operasional

- a. Abu ampas tebu merupakan sisa dari tebu yang telah diambil sarinya, diperoleh dari pabrik gula Jatiroto di Kabupaten Lumajang diproses menjadi abu ampas tebu dengan cara dikeringkan, dibakar dengan api, dan dibakar dalam furnace bersuhu 900⁰ C.
- b. *Bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu adalah *bioactive glass* yang memiliki partikel silika berukuran nano yang berasal dari abu ampas tebu setelah proses furnace dengan suhu 900⁰C dan diayak menggunakan ayakan 200 mesh.

- c. Gel *Bioactive glass nanosilica* adalah bubuk *bioactive glass nanosilica* yang telah dicampur dengan bahan basis gel CMC-Na sebanyak 3% sehingga membentuk konsistensi semi padat.
- d. Dentin reparatif adalah dentin yang terbentuk sebagai respon terhadap trauma atau cedera untuk menggantikan jaringan dentin yang rusak atau hilang. Secara histologi, dentin reparatif terdapat lapisan tubular yang irreguler dan terdapat osteodentin. Pada pewarnaan H&E, dentin reparatif akan berwarna lebih pucat ke merah dengan bentukan osteodentin yang lebih gelap (Long dkk., 2017).
- e. Hari ke-28 adalah waktu yang diperlukan *odontoblast-like cells* untuk membentuk dentin reparatif (Koike, 2014).

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

- a. Oven (Memmert, UL 40, Germany)
- b. *Muffle furnace*
- c. Saringan 200 mesh
- d. Mortar
- e. Pastel
- f. Kertas saring *whatman* no.42
- g. pH meter elektrik
- h. Timbangan elektrik (4 angka dibelakang koma)
- i. Pengaduk magnet (Wisester)
- j. Beaker 200ml, 250ml, 400ml, 500ml dan 1000ml
- k. Paper pad
- l. Spatula agate
- m. Sendok kecil
- n. Tabung Erlenmeyer
- o. *Falcon tube*
- p. Corong kaca
- q. Cawan Porselin
- r. Alumunium foil

- s. Cetakan lempeng kuningan
- t. *Furnance*
- u. Kandang tikus
- v. Timbangan untuk tikus
- w. Sduit injeksi (Terumo, Philippines)
- x. *Round bur* no 10 diameter 1 mm² (Edenta, Swiss)
- y. *Handpiece* (W&H, German)
- z. Lup
- aa. Pinset anatomis
- bb. Pinset sirugis
- cc. Pisau
- dd. Scapel
- ee. *Object glass*

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Abu ampas tebu
- b. HCL 0,1 M
- c. NaOH
- d. Na₂SO₄
- e. Na₂O
- f. SBF
- g. CaO
- h. P₂O₅
- i. HNO₃
- j. Si(OC₂H₅)₄
- k. (CaOH)₂
- l. Etanol 96%
- m. Aquades
- n. Tikus jantan wistar
- o. Masker
- p. *Handscoon* dan *Gloves*

- q. Larutan anestesi *ketamine* (65 mg/kg BB) dan *Xylazine-HCL* (7 mg/kg BB).
- r. *Cotton bud, cotton ball*
- s. Kassa
- t. Tissue
- u. Povidon Iodin
- v. CMC-Na
- w. NaOCL
- x. Kaviton
- y. Buffer Formalin 10 %
- z. Asam formiat 10 %
- aa. *Xylol*
- bb. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (*calcium nitrate tetrahydrat*)
- cc. Pewarna *Hematoxillin Mayer's*
- dd. *Chloroform*

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Uji Identifikasi Ampas Tebu

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

b. *Ethical Clearance*

Sebelum dilakukan penelitian, tata laksana hewan coba dan prosedur yang dilakukan harus sesuai dengan *ethical clearance* pada Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

c. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih, dikeringkan kemudian direndam alkohol 70% selama 15 menit dan untuk alat-alat yang terbuat dari logam yang akan digunakan dicuci bersih dan disterilkan dengan *Autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C (Lugito, 2013).

3.7.2 Pembuatan prekursor silika berupa Natrium silika

Pembuatan *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu diawali dengan pembuatan prekursor *silica* 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 untuk menghasilkan abu.



Gambar 3.1 Pembakaran ampas tebu dengan api untuk menghasilkan abu ampas tebu (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- b. Membakar abu ampas tebu dalam alat *furnace* bersuhu 900°C selama 2 hari hingga menjadi abu ampas tebu dengan warna kecoklatan.



Gambar 3.2 Pembakaran abu ampas tebu dengan *furnance* untuk menghasilkan partikel abu ampas tebu yang lebih halus (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

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



Gambar 3.3 Pengayakan abu ampas tebu dengan ayakan 200 mesh untuk menghasilkan partikel nano (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- d. 25 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. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan logam lain selain silika yang terdapat pada abu. Hasil pengadukan tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam.



Gambar 3.4 Pengadukan abu ampas tebu dengan *magnetic sterer* (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- e. Abu ampas tebu disaring menggunakan kertas saring dan dibilas dengan akuades hingga pH normal (7). Pengecekan pH dilakukan menggunakan alat pH meter.



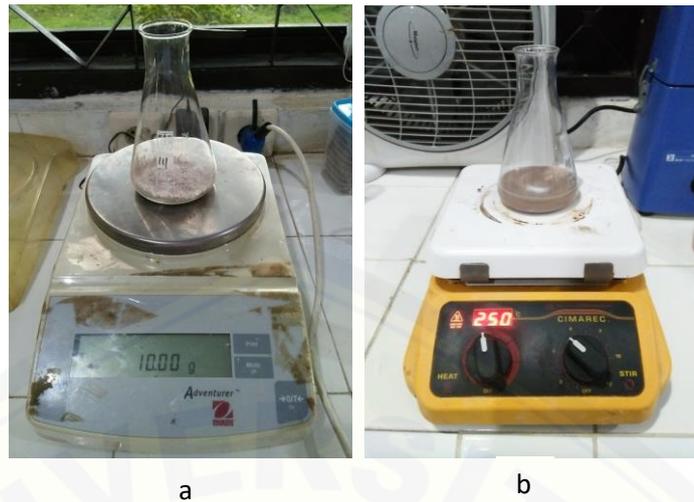
Gambar 3.5 Penyaringan abu ampas tebu dengan kertas saring dan pembilasan menggunakan akuades (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- f. Mengeringkan abu ampas tebu dalam oven bersuhu 110°C selama 2 jam, kemudian ditimbang.



Gambar 3.6 Pengeringan abu ampas tebu dengan oven selama 2 jam (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- 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 a. Penimbangan abu ampas dengan timbangan digital.
b. Pencampuran bahan dengan NaOH dan pengadukan otomatis dengan pengaduk magnet (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- h. Mendinginkan campuran di atas hingga mencapai suhu kamar, kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil dari penyaringan ini adalah filtrat berupa natrium silika.



Gambar 3.8 Natrium silikat dalam bentuk powder (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- i. Mengeringkan natrium silika dengan oven bersuhu 110° selama 2 jam sehingga terbentuk natrium silika kering yang siap digunakan sebagai prekursor silika dalam pembuatan *bioactive glass nanosilica*.

3.7.3 Pembuatan *bioactive glass nanosilica*

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

- a. Natrium silika 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. HNO_3 2 M kemudian 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 gram P_2O_5 (*phosporus pentoxide*) ditambahkan dalam campuran di atas dan tetap diaduk selama 45 menit.
- e. Selanjutnya ditambahkan 4,1 gram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (*calcium nitrate tetrahydrat*) dan tetap diaduk selama 45 menit.
- f. Terakhir campuran tersebut diaduk selama 1 jam sampai terbentuk gel dan kemudian didiamkan selama 5 hari dalam temperatur ruang.



Gambar 3.9 Natrium silikat yang telah dicampur dengan akuades, etanol, HNO_3 , P_2O_5 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ dan diaduk menggunakan alat pengaduk magnet (Sumber: Koleksi pribadi, 2017).

- g. Gel tersebut dikeringkan dalam oven bersuhu 60°C selama 72 jam. Pengerinan akhir dilakukan menggunakan alat *furnace* dengan suhu 600°C selama 5 jam, dilanjutkan dengan suhu 1000°C selama 2 jam.



Gambar 3.10 Hasil pengeringan gel (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

3.7.4 Pembuatan gel *bioactive glass nanosilica* dengan basis CMC-Na (Nofikasari, 2016)

- a. Menimbang bahan CMC-Na sebanyak 3 gram.



Gambar 3.11 Penimbangan bahan CMC-Na (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- b. Mencampurkan bahan CMC-Na dengan 100 ml aquades



Gambar 3.12 Pencampuran bahan dengan aquades (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- c. Menimbang serbuk *bioactive glass nanosilica* sebanyak 5 gram



Gambar 3.13 Penimbangan 5 gr bahan (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- d. Mencampurkan larutan CMC-Na dengan 5 gram serbuk *bioactive glass nanosillica*



Gambar 3.14 Hasil pencampuran larutan CMC-Na dengan *bioactive glass nanosillica* (Sumber : Koleksi pribadi, 2017).

- e. Mengaduk campuran larutan CMC-Na dengan serbuk *bioactive glass nano silica selama 10 menit hingga merata.*

3.7.5 Tahap Adaptasi

Tikus Wistar sebanyak 8 ekor dengan berat 200-250 gr setiap ekornya diadaptasikan selama satu minggu sebelum mulai diberikan perlakuan di Laboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.7.6 Tahap Perlakuan

- a. Menyiapkan tikus dengan difiksasi agar tidak bergerak.
- b. Menganestesi tikus pada kaki secara intramuskular dengan obat anastesi berupa ketamin HCL dan *xylazine* dengan dosis 0,2ml/200grBB untuk setiap satu ekor tikus.
- c. Tikus yang sudah dianastesi diposisikan pada meja kerja.



Gambar 3.15 Tikus yang teranestesi diposisikan terlentang (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

- d. Meretraksi pipi tikus dengan menggunakan kaca mulut no.3, kemudian memblokir saliva dengan menggunakan cotton pellet yang steril. Tikus yang sudah dianastesi diposisikan terlentang diatas meja dan memfiksasi dengan jari tangan pada bagian leher.
- 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.



Gambar 3.16 Meretraksi pipi tikus dan dilakukan preparasi gigi molar satu rahang atas (Sumber : Koleksi Pribadi, 2017).

- f. Pada kelompok kontrol, kavitas dibersihkan menggunakan cotton pellet lalu ditumpat menggunakan tumpatan sementara.
- g. Pada kelompok perlakuan, diaplikasikan selapis tipis gel *bioactive glass nanosilica* pada kavitas menggunakan eskavator kecil dan diratakan dengan *liner applicator*. Selanjutnya kavitas ditumpat dengan tumpatan sementara.
- h. Tikus ditunggu hingga sadar kemudian dilepas ke dalam kandang.
- i. Tikus diberi makan pelet dan minum sehari 2 kali menggunakan dot yang dipasang pada kandang.
- j. Pada hari ke-28, sebanyak 4 ekor tikus didekapitasi sesuai dengan pembagian kelompok. Dekapitasi pada tikus menggunakan overdosis kloroform secara inhalasi dan dilanjutkan dengan dislokasi servikal.



a.

b.

(a) Pembiusan tikus dengan kloroform ; (b) dislokasi servikal
Gambar 3.17 Euthanasia hewan coba (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

3.8 Pengambilan sampel dan pembuatan sediaan preparat histologi

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



Gambar 3.18 Pengambilan jaringan dengan memotong rahang atas (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

- b. Memisahkan jaringan lunak dengan jaringan keras menggunakan gunting bedah dan pisau bedah.
- c. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10 % selama minimal 12-18 jam kemudian dilakukan dekalsifikasi dengan memakai larutan asam formiat 10 % selama 7 hari.



Gambar 3.19 Jaringan difiksasi menggunakan larutan buffer formalin 10% (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

- d. Setelah 7 hari dicek dengan menggunakan jarum untuk memastikan jaringan keras sudah melunak.
- e. Setelah itu dilakukan pemrosesan jaringan melalui beberapa tahap yaitu dehidrasi, *clearing*, *impregnasi*, *embedding*, penyayatan, dan pengecatan
- f. Dehidrasi dilakukan, dimulai dengan alkohol 70 % selama 15 menit, 80 % selama 1 jam, 95 % selama 2 jam, dan 100 % selama 3 jam.

- g. 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.
- h. Dilakukan *Impregnasi* dengan cara, jaringan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam parafin TD 56- 60 °C selama 2x3 jam.
- i. *Embedding* dilakukan penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu parafin.



Gambar 3.20 Tahap *embedding* (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

- j. Setelah parafin beku dilakukan penyayatan blok paraffin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 μm . Arah pemotongan yaitu dari bukal – lingual. Sayatan diambil dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperature tetap 56-58 °C hingga sayatan mekar.



Gambar 3.21 Tahap penyayatan blok paraffin menggunakan mikrotom (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

- k. Sayatan yang sudah mekar diambil dengan *object glass* yang diolesi dengan *meyeregg albumin*, dikeringkan dengan suhu 30-35°C minimal selama 12 jam.(Kurnia dkk., 2015).

3.8.1 Pewarnaan preparat histologi

- a. Pengecatan preparat jaringan dilakukan dengan tahapan deparafinisasi dengan preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2-3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam wadah yang berbeda selama 2-3 menit.
- b. Rehidrasi dengan alkohol 100 % dan 95 % selama 3menit.
- c. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit. Preparat diwarnai dengan *Hematoxillin Mayer's* selama 15 menit
- d. Bilas ulang dengan air mengalir selama 20 menit,



Gambar 3.22 Pembilasan menggunakan air mengalir (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

- e. Preparat direndam *eosin* selama 15 detik sampai 2 menit,
- f. Dehidrasi dengan alkohol konsentrasi meningkat 95 % dan 100 % masing masing 2-3menit sebanyak 2 kali dalam wadah yang berbeda.



Gambar 3.23 Proses dehidrasi dengan alkohol (Sumber: Koleksi Pribadi, 2017).

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

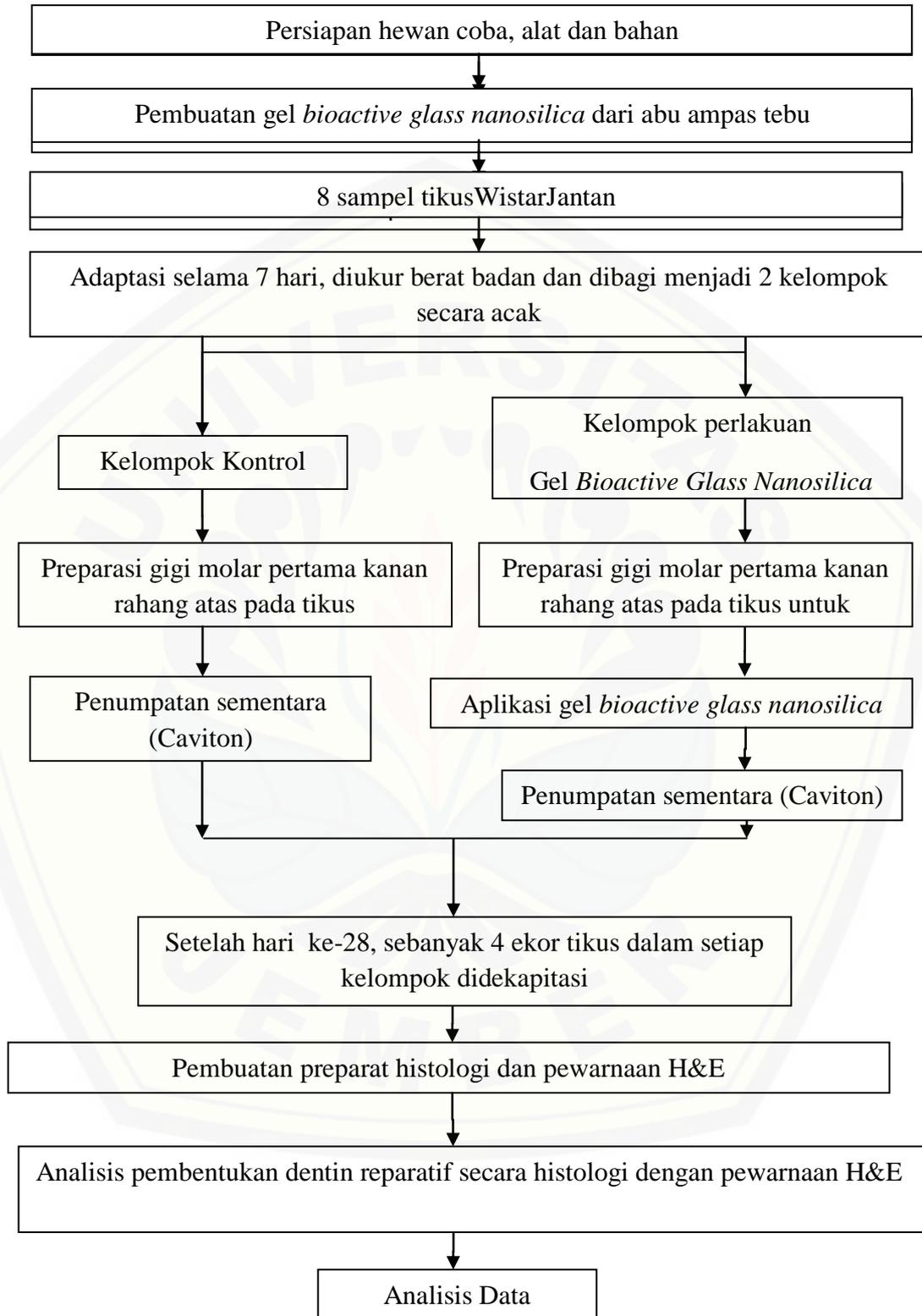
- h. *Mounting* menggunakan cairan *Entellan* lalu ditutup dengan *deck glass* (Kurnia dkk., 2015).

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 400x dan dilanjutkan dengan pengukuran lebar dentin reparatif menggunakan garis ukur berskala mikro yang terdapat pada mikroskop. Setiap preparat diamati oleh tiga orang pengamat yang berbeda. Hasil pengamatan dari masing – masing pengamat dirata-rata untuk mendapatkan data (Kurnia dkk., 2015).

3.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji parametrik. Pertama dilakukan uji normalitas dengan uji *Sphiro Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levine Test*. Data yang didapat terdistribusi normal dan homogen, kemudian dilakukan uji parametrik yaitu uji *Independent T-test* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan beda signifikan (beda signifikan apabila $p < 0,05$).

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.24 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu dapat membentuk dentin reparatif.

5.2 Saran

1. Melakukan penelitian lebih lanjut terhadap pembentukan dentin reparatif bahan gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu menggunakan uji SEM.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut terhadap perbandingan bahan gel *bioactive glass nanosilica* dari abu ampas tebu dengan bahan *calcium hidroxyde* atau *mineral agregate trioxide* yang selama ini digunakan untuk pembentukan dentin reparatif dalam kedokteran gigi.

DAFTAR PUSTAKA

- About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J. 2000. Human Dentin Production In Vitro. *Exp Cell Res* 258: 33-41.
- Adams, L. A., Enobong R. E., Rafiu O. S., Aderemi O. 2013. Sol – Gel Synthesis of SiO₂ – CaO – Na₂O – P₂O₅ Bioactive Glass Ceramic from Sodium Metasilicate. *New Journal of Glass and Ceramics*. Vol. 3: 11 – 15.
- Adyatmaka, I. 2008. Model Simulator Risiko Karies Gigi Pada Anak Prasekolah. Disertasi. Program Doktorat Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, Jakarta, hal. 26.
- Alauddin, S. S. 2004. In Vitro Remineralization Of Human Enamel With Bioactive Glass Containing Dentifrice Using Confocal Microscopy and Nanoidentation Analysis For Early Caries Defense. University of Florida: Florida.
- Allen, L. V. Jr. 2002. *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding*. 2nd Ed. 301-324. Washington, D.C.: American Pharmaceutical Association.
- Ami, Angela 2005. Pencegahan Primer Pada Anak Yang Berisiko Karies Tinggi. *Dent. J.* 38 (3): 130–134.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Jakarta : UI Press.
- Apriawan, D., Irham., J. Handoyo. 2015. Analisis Produksi Tebu dan Gula PT. Perkebunan Nusantara VII (PERSERO). *Agro Ekonomi* 26(2):159-167.
- Ardo, S. 2011. A Histopatologic study of Direct Pulp Capping Treatment With Propolis-Flavonoids Extract. *Makalah Ikorgi*. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hassanuddin.
- Augstburger, F., John, B., Udo, C., Petra, H., Joachim, M., dan Christine, S. 2000. Organic Farming in The Tropics and Subtropics. Exemplary Description of 20 Corps Sugarcane. German : Naturland e.V.
- Benindra H. 2012. Prakiraan Usia Berdasarkan Metode TCI dan Studi Analisa Histologis Ruang Pulpa Pada Usia 9-12 Tahun. *Tesis*. Jakarta. Fakultas Kedokteran Gigi Ilmu Magister Kedokteran Gigi Dasar.
- Benoist, F., Fatou, G., Abdoul, W., Henri, M., dan Pierre, F. 2012. Evaluation of Mineral Trioxide Aggregate (MTA) Versus Calcium Hydroxide Cement

(Dycal) in The Formation of a Dentine Bridge: a Randomised Controlled Trial. *International Dental Journal* 62: 33-39.

Berkovitz, BKB., G.R Holland., B.J Moxham. 2009. *Oral Anatomy, Histology, And Embryology. 4th ed.* New York:129.

Chen, Q., Roether, J., dan Boccaccini, A. 2008. Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials. *Topics in Tissue Engineering*.

Dewi, K.S., Yulianti, A., dan Munadzirah, E. 2012. Evaluasi Perubahan Warna Resin Komposit Hybrid Setelah Direndam Obat Kumur. *Jurnal PDGI* 61 (1). ISSN 0024-9548.

Dwiandhono, I., Effendy, R., dan Kunarti, S. 2016. The Thickness of Odontoblast-Like Cell Layer After Induced by Propolis Extract and Calcium Hydroxide (in vivo). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)* 49(1): 17-21.

Dwiastuti, Rini. 2010. Pengaruh Penambahan CMC (CARBOXYMETHYL CELLULOSE) Sebagai Gelling Agent dan Propilen Glikol Sebagai Humektan dalam Sediaan Gel Sunscreen Ekstrak Keirng Polifenol Teh Hijau. *Jurnal Penelitian* 13(2).

Famiano, F., Luigi, F., Vincenzo, M., Rosario, R., dan Letizia P. 2014. Reactionary And Reparative Dentinogenesis a Review. *International Journal of Dental Clinics* 6(4).

Farooq, I., Zonera I., Umer F., Ali F., Humera A. 2012. Bioactive Glass : A Material For The Future. *World Journal of Dentistry*. 3 (2).

Ferracane, J. L., Paul R. C., Anthony J. S. 2010. Can Interaction of Materials with the Dentin – Pulp Complex Contribute to Dentin Regeneration?. *Odontology*. (98) : 2 – 14.

Fernandez, B. R. 2012. Sintesis Nanopartikel SiO₂ Menggunakan Metoda Sol-gel Dan Aplikasinya Terhadap Aktifitas Sitotoksik Sel. *Review Jurnal Nanoteknologi*. Padang: Jurusan Kimia, Program Pascasarjana Universitas Andalas.

Fujiastuti, T dan Sugihartini, N. 2015. Sifat Fisik Dan Daya Iritasi Gel Ekstrak Etanol Herba Pegagan Dengan Variasi Jenis Gelling Agent. *Pharmacy* 12(1).

Gaur, R., Azizi, M., Gan, J., Hansal, dkk. 2008. *British Pharmacopoeia 2009*. (Electronic Version).

- Gong, W., Huang, Z., Dong, Y., Gan, Y., Li, S., Gao, X., dan Chen, X. 2014. Ionic Extraction Of A Novel Nano-Sized Bioactive Glass Enhance Differentiation And Mineralization Of Human Dental Pulp Cells. *JOE Journal* 40(1).
- Grossman, Louis I. 1995. *Ilmu Endodontik Dalam Praktek Ed ke-11*. Jakarta: EGC.
- Hansen, Ch., Wala., Dinar, A., Elita, Tambunan. 2014. Gambaran Staus Karies Gigi Anak Usia 11-12 Tahun Pada Keluarga Pemegang Jamkesmas di Kelurahan Tumatangtang I Kecamatan Tomohon Selatan. *Skripsi*. Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Hasniastuti, Tetiana., Phides N., dan A.A. Djais. 2008. The Role of Transforming Growth Factor Beta Tertiary Dentinogenesis. *Dent J.* 41(1): 15-20.
- Hasyim, N., Pare, K. L., Junaid, I., Kurniati, A., 2012. Formulasi dan Uji Efektivitas Gel Luka Bakar Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata L.*) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 16(2): 89–94.
- Hench ,LL., Polak, M., Xynos, ID., dan Buttery, L. 2000. Bioactive Materials To Control Cell Cycle. *Mater Res Innovations* 3.
- Imran, Herry., Nasri., M, Rohani. 2012. Pengaruh Minuman Jus Lemon Kemasan Terhadap Perubahan Kekerasan Email Gigi Berdasarkan Durasi Waktu. *Penelitian Risbinakes*.
- Inijati., Tri Endra, U., dan Tunjung, N. 2016. Perbandingan Kebocoran Mikro Antara Tumpatan Sememtara Berbasis Resin, Kalsium Sulfat dan Seng Oksida Eugenol. *J Ked Gi* 7(2): 93-96.
- Jones, Julian R.2013. *Department of Materials, Imperial College London, South Kensington Campus, London*. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids.
- Juan, I., Detsch, R., Mathur, S., Ionescu, E., Boccaccini, A., dan Riedel, R. 2016. Synthesis and In Vitro Activity Assessment of Novel Silicon Oxycarbide-Based Bioactive Glasses. *Journal Materials* 9(12).
- Jusuf, Ahmad. 2009. *Histoteknik Dasar*. Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Kaufmann, E., Ducheyne, P., dan Shapiro ,IM. 2000. Evaluation of osteoblast response to porous bioactive glass (45S5) substrates by RT-PCR analysis. *Tissue Eng* 6.
- Kumala P., Sugiarto K., Alexander H., Johannes R., dan Yuliasari R. 2006. Kamus Saku Kedokteran Dorland. Jakarta: EGC.
- Kidd, Edwina A.M. & Sally Joyston-Bechal. 1991. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Jakarta: EGC.
- Kim, Ki., Joe, Y., Kim, M., Lee, Su., Ryu, Y., Cho, D., dan Rhie, J. 2015. Silica Nanoparticles Increase Human Adipose Tissue-Derived Stem Cell Proliferation Through ERK 1/2 Activation. *International Journal Of Nanomedicine* 1.
- Krishnan, V. dan Lakshmi T. 2013. Bioglass : A Novel Biocompatible Innovator. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 4 (2): 78 – 83.
- Kristianingrum, S., Endang D. S., Annisa F. 2011. Pengaruh Jenis Asam pada Sintesis Silika Gel dari Abu Bagasse dan Uji Sifat Adsorptifnya terhadap Ion Logam Tembaga (II). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*: 281 – 291.
- Kurnia, P. A., H.B. Ardhiyanto, dan Suhartini. 2015. Potensi Ekstrak Teh Hijau(Camellia sinensis) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(1).
- Lugito, M. D. H. 2013. Kontrol Infeksi dan Keselamatan Kerja dalam Praktek Kedokteran Gigi. *Jurnal PDGI* 62(1): 24-30.
- Lundeen TF, Sturdevant JR, Sluder TB. 2000. Clinical significant of dental anatomy, histology, physiology, and occlusion. In (Sturdevant CM, Roberson TM, Heyman MD, and Sturdevant JR, eds). *The art science of operative dentistry 4th ed*. St Louis: C.V. Mosby Company, pp.12-34.
- Long, Yuzi., Siyi L., Lin Z., Qiming L., Xiaofeng C., dan Yanmei D. 2017. Evaluation Of Pulp Respond to Novel Bioactive Glass Pulp Capping Materials. *JOE*. 43(10) :1647-1650.
- Lachman, L., Lieberman H.A., Kanig J.L., 1989. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Jakarta : UI Press.
- Margono, Anggriani. 2012. Potensi Sel Punca Mesenkhim Asal Jaringan Lemak Dengan Produk Plasma Untuk Regenerasi Sel Odontoblas Jaringan Pulpa In

- Vitro. *Disertasi*. Jakarta: Program Ilmu Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Jakarta.
- Mc Donald, R., Avery, D., dan Dean, J. 2004. Treatment Deep Caries, Vital Pulp Exposure, And Pulpless Teeth. *Dentistry Of Child and Adolescent* Ed. 8, Mosby. St. Louis.
- Melisa., Wignyo, H., dan Juanita, A. 2011. Trioxide Aggregate (MTA) Studi Pustaka. MIKGI edisi khusus.
- Mitsiadis TA, Rahiotis C. 2004. Parallels Between Tooth Development and Repair: Conserved Molecular Mechanisms Following Carious and Dental Injury. *J Dent Res* 83: 896-902.
- Muntiha, Mohamad . 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). Balai Penelitian Veteriner Bogor.
- Murray, E., Kitasako, Y., Tagami, J., Windsor, L., dan Smith, A. 2002. Hierarchy of variables correlated to odontoblast-like cell numbers following pulp capping. *Journal of Dentistry* 30 : 297–304.
- Murray, E., dan Garcia-Godoy, F. 2006. The Incidence of Pulp Healing Defect With Direct Capping Materials. *Am J Dent*. 19.
- Noraihan T, Rahim AT., Mohamad D, Ismail AR, Akil, HMD. 2011. Synthesis of Nanosilica Fillers for Experimental Dental Nanocomposites and Their Characterisations. *Journal of Physical Science*. 22(1) :93–105.
- Novitasari, A., Recita I., dan Rosa P. 2017. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Membran Kulit Telur Bebek 10% Terhadap Kepadatan Serabut Kolagen Pada Proses Penyembuhan Luka Ginggiva. *Odonto Dental Journal* 4(1).
- Nowicka, A., Grazyna, W., Mariusz, L., Janusz, K., dan Jadwiga, B. 2015. Tomographic Evaluation of Reparative Dentin Formation after Direct Pulp Capping with Ca(OH)₂, MTA, Biodentine, and Dentin Bonding System in Human Teeth. *JOE* 41(8).
- Octiara, Essie. 2015. Dentin Reparatif Dan Growth Factor Yang Berperan Dalam Dentinogenesis Reparatif. *Dentika Dental Jurnal*. 18(3):294-299.
- Ofner III CM dan Klech-Gelotte CM. 2007. Gel and Jellies. in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 3rd edition, Swarbrick. J (ed.), Informa, New York, 1875.

- Okumura, R., Shima, K., Muramatsu, T., Nakagawa, K., Shimono, M., Suzuki, T., Magloire, H., Shibukawa, Y. 2005. The Odontoblast As Sensory Receptor Cell The expressiopn of TRPV1 (VR-1) Channels. *Arch Histol Cytol.* 68(4): 251-257.
- Oonishi, H., Hench, LL., Wilson, J., Sugihara, F., Tsuji, E., dan Kushitani, S.1999. Comparative Bone Growth Behavior In Granules Of Bioceramic Materials Of Various Sizes. *J Biomed Mater Res* 44:31-43.
- Panturau dan Setyawan. 2006. Product of the Cane Sugar Industry. Amsterdam : *Elsevier*.
- Phradina, F., Muhammad Y.I., dan Nurdiana D. 2016. Kadar Kelarutan Fluor Glass Ionomer Cement Setelah Perendaman Air Sungai dan Akuades. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 2(2).
- Pratiwi D. 2007. *Gigi Sehat Merawat Gigi Sehari-Hari*. Jakarta: Penerbit Kompas; 2007. h. 25.
- Purnawan, C., Hilmiyana D., Wantini W., dan Fatmawati E. 2012. Pemanfaatan Limbah Ampas Tebu Untuk Pembuatan Kertas Dekorasi Dengan Metode Organosolv. *Jurnal EKOSAINS*. IV(2).
- Puspita, S. 2008. Proses Penyembuhan Jejas Pada Jaringan Pulpa. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Phumying, S., Sarawuth L., Chunpen T., Vittaya A., Ekaphan S., dan Santi M. 2013. Aloe Vera Plant-Extracted Solution Hydrothermal Synthesis and Magnetic Properties of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles. *Applied Physics A* 111(4): 1187-1193.
- Queiroz, AM., Assed S., Leonardo MR., Nelson F., dan Silva LA. 2005. MTA and Calcium Hydroxide For Pulp Capping. *J Appl Oral Sci.* 13(2):126-130.
- Rahaman, M. N., Delbert E. D., B. Sony B., Qiang F., Steven B. J., Lynda F. B., Antoni P. T. 2011. Review : Bioactive Glass in Tissue Engineering. *Acta Materialia.* 7: 2355 – 2373.
- Reffitt, DM., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H., dan Evans, B. 2003. Orthosilicic Acid Stimulates Collagen Type 1 Synthesis And Osteoblastic Differentiation In Human Osteoblast-like Cells In Vitro. *Elsevier Science.* 32(2):127-35.
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). 2013. Pedoman Pewawancara Petugas Pengumpul Data. Jakarta: Badan Litbangkes, Depkes RI.

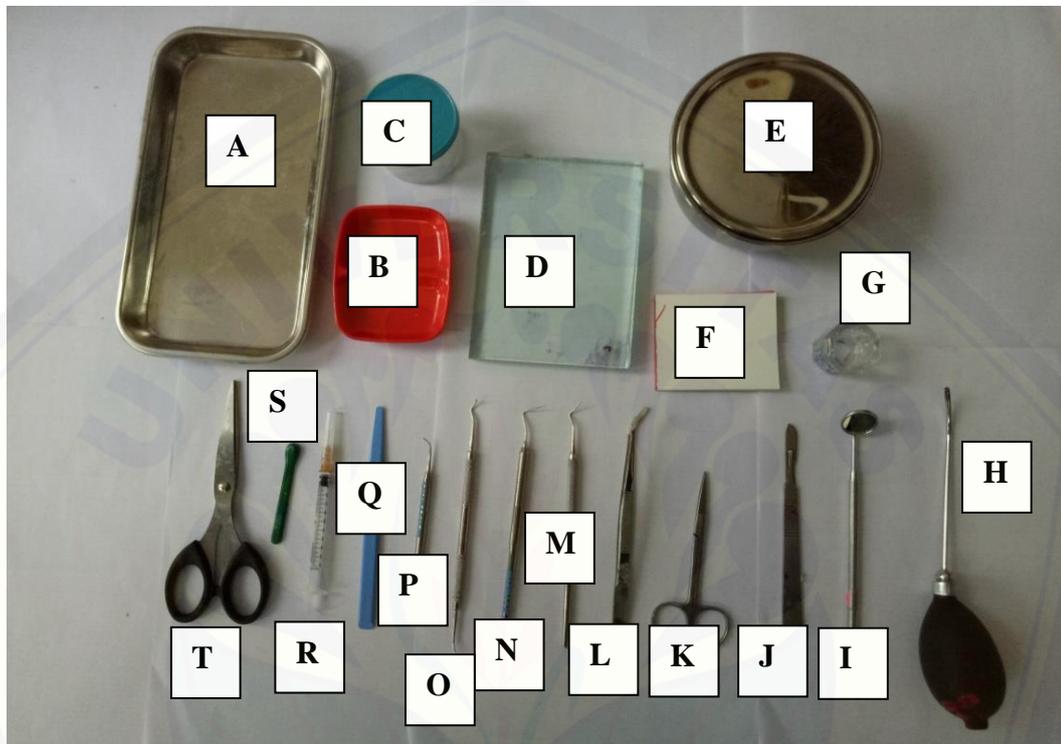
- Rokhmah, Azizah. 2010. Efek Pemberian Silika dari Limbah Sekam Padi (*Oryza Sativa*) erhadap Proses Remineralisasi Enamel Gigi. Tidak Diterbitkan *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Rompas, Gerry. 2013. Pengaruh Pemanfaatan Abu Ampas Tebu Sebagai Substitusi Parsial Semen dalam Campuran Beton Ditinjau Terhadap Kuat Tarik Lentur dan Modulus Elastisitas. *Jurnal Sipil Statistik* 1(2),h. 82-89.
- Sabir, Ardo. 2003. Kaping Pulpa Langsung : Suatu Perawatan yang Bermanfaat Untuk Memelihara Vitalitas Gigi. *Journal of Dentistry*. 36 : 104 – 109.
- Salako, N., Joseph, B., Ritwik, P., Salonen, J., John, P., dan Junaid, TA. 2003. Comparison Of Bioactive Glass, Mineral Trioxide Aggregate, Ferric Sulfate, And Formocresol As Pulpotomy Agents In Rat Molar. *Dent Traumatol* 19(6).
- Sazak, S., Gunday, M., dan Alatli, C. 1996. Effect Of Calcium Hydroxide And Combinations Of Ledermix And Calcium Hydroxide On Inflammed Pulp In Dogs Teeth. *Journal of Endodontics* 22.
- Scheid Rickne C, Weiss Gabriella. 2011. *Woefel Anatomi Gigi ed.8*. Jakarta:EGC.
- Setyanto, A.Eko. 2015. Memperkenalkan Kembali Metode Eksperimen dalam Kajian Komunikasi. *Jurnal Ilmu Komunikasi* 3(1).
- Shirakawa M, Shiba H, Nakanishi K, Ogawa T, Okamoto H, Nakashima K, Noshiro M, Kato Y. 1994. Transforming Growth Factor-Beta-1 Reduces Alkaline Phosphatase mRNA and Activity and Stimulates Cell Proliferation In Cultures of Human Pulp Cells. *J Dent Res* 73:1509-14.
- Simon S. 2009. Molecular Characterisation Of Odontoblasts During Primary, Secondary and Tertiary Dentinogenesis. Thesis Doctorat. United Kingdom: University Of Birmingham.
- Smith AJ, Lesot H. 2001. Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair? *Crit Rev Oral Biol Med* 12:425-437.
- Soejardi. 1985. *Dasar – dasar Teknologi Gula*. Yogyakarta: LPP.
- Stanleya R dan Samson Nesaraj A., 2014. Effect of Surfactants on the Wet Chemical Synthesis of Silica Nanoparticles. *Int. J. Appl. Sci. Eng.*, 12:1- 9.

- Suhendarwati, L., Suharto, B., & Susanawati, L.D. 2014. Pengaruh Konsentrasi Larutan Kalium Hidroksida pada Abu Dasar Ampas Tebu Teraktivasi. *Jurnal Sumberdaya Alam & Lingkungan*, 1(1).
- Sumardjo, D. 2008. *Pengantar Kimia : Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta : EGC.
- Suwelo, I. S. 1992. *Karies Gigi Pada Anak Dengan Pelbagai Faktor Etiologi*. EGC. Jakarta.
- Tarigan, B. Y. dan J. N. Sinulingga, 2006. Laporan Praktek Kerja Lapangan di Pabrik Gula Sei Semayang PTPN II Sumatera Utara. (Laporan). Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Trowbridge HO, Kim S, Suda H. 2002. Structure and Function of The Dentin and Pulp Complex. In (Cohen S, ands Burn RC, eds). *Pathways of The Pulp* 8th cd. St Louis: Mosby Inc. pp. 411-447.
- Wahyu, H. 2013. Analisis Pembentukan PEMBENTUKAN *Hydroxycarbonate Apatite* Pada Bubuk Glass Ionomer Tipe II Dengan Penambahan Bioactive Glass Nano Sillica Abu Ampas Tebu Yang Direndam Cairan Tubuh Buatan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Wang, S., Gao, X., Gong, W., Zhang, Z., Chen, X., dan Dong, Y. 2014. Odontogenic Differentiation And Dentin Formation Of Dental Pulp Cells. *Acta Biomaterialia* 10.
- Wibowo, Wusana Agung dan Mulyono, Tri Suseno. 2010. Pembuatan dan Uji Pembakaran Ethanol Gel. *Jurnal Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret* 9(2):67-71.
- Yamamura T.1985.Differentiation Of Pulpal Cells And Inductive Influences Of Various Matrices With Reference To Pulpal Wound Healing. *J dent Res*.
- Yu C dan Abbott PV. 2007. An Overview Of The Dental Pulp: Its Functions And Responses to Injury. *Aust Dent J* 52(1): 16
- Yusuf, W.,Karimah R. 2014. Pemakaian Abu Ampas Tebu Dengan Variasi Suhu Sebagai Substitusi Parsial Semen Dalam Campuran Beton. Jurusan teknik sipil-fakultas teknik univ. muhammadiyah malang.

LAMPIRAN

Lampiran A. Alat dan Bahan Penelitian

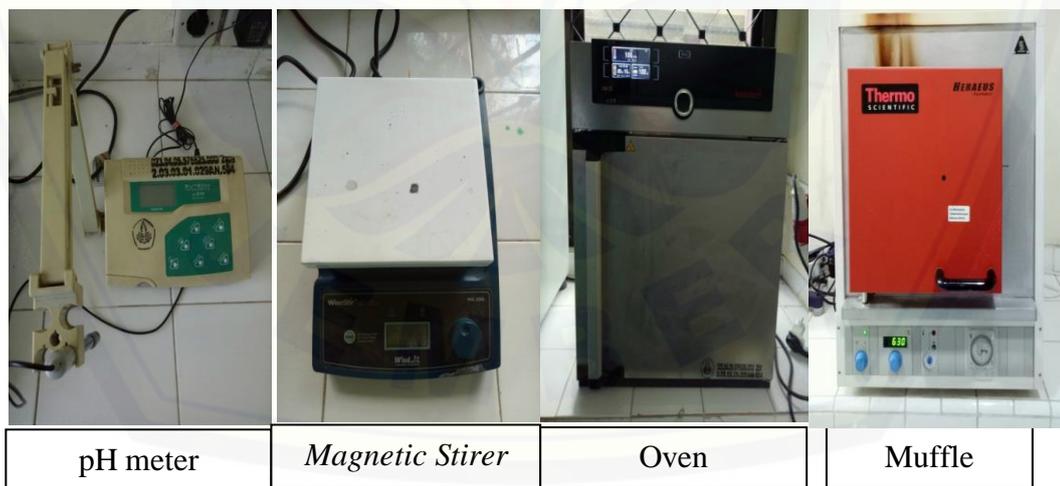
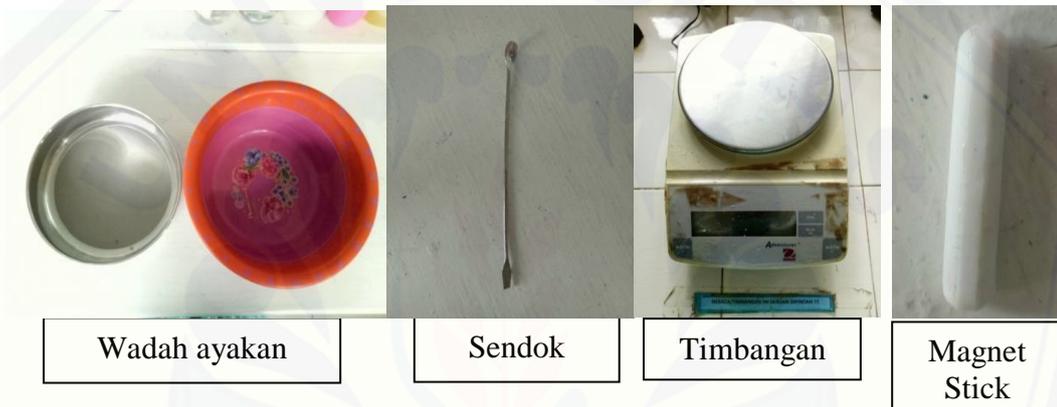
A.1 Alat Penelitian

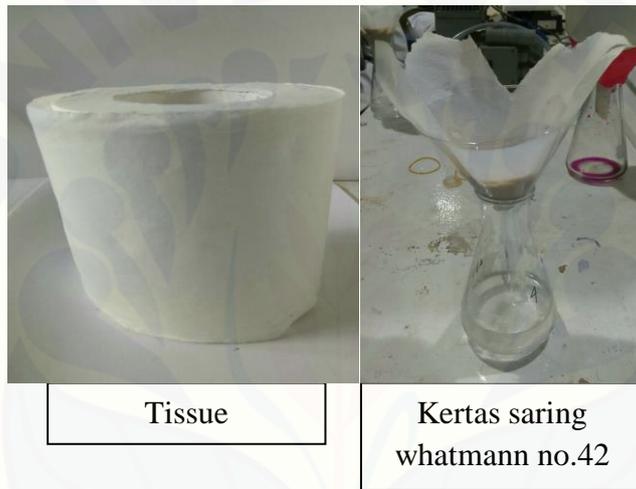


Keterangan :

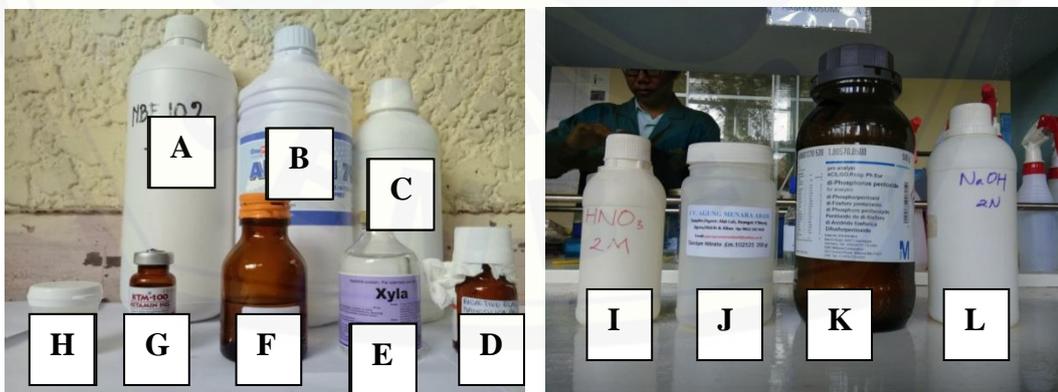
- a. Baki stainless
- b. Tempat saos
- c. Tempat fiksasi jaringan
- d. Glassplate
- e. Tempat tampon
- f. Paper pad
- g. Deppen glass
- h. Chip blower
- i. Kaca mulut no.3
- j. Scalpel dan blade
- k. Gunting kecil

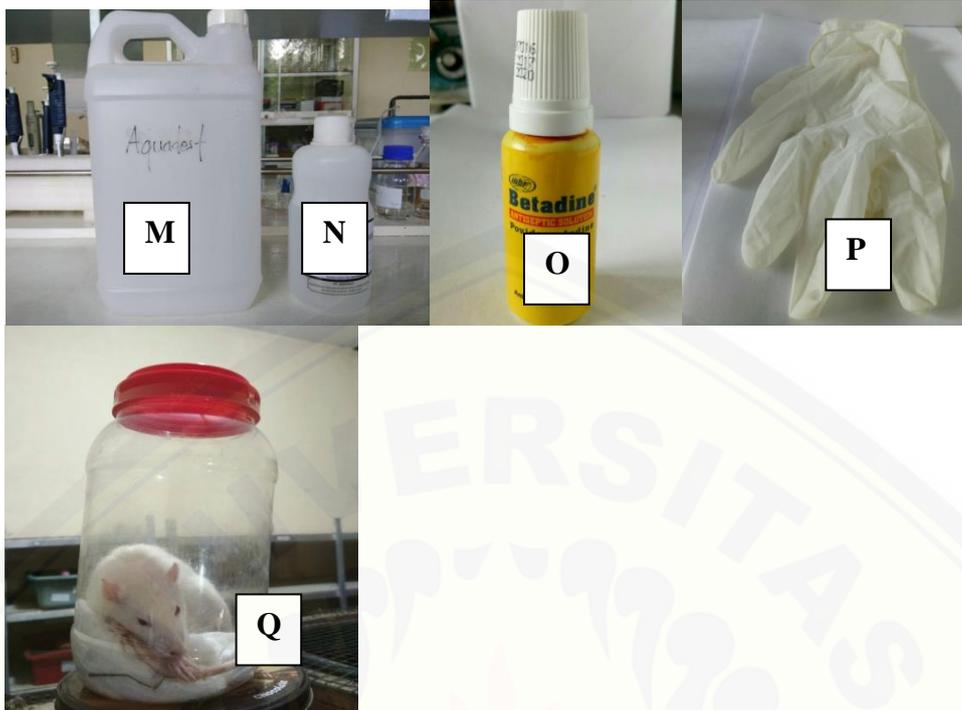
- l. Pinset
- m. Sonde lurus
- n. Probe WHO
- o. Ekskavator
- p. Liner applicator
- q. Spatula agate
- r. Syringe
- s. Sendok GI
- t. Sendok besar





A.2 Bahan Penelitian





Keterangan :

u. NBF 10 %

v. Alkohol 70 %

w. Saliva buatan

x. bioactive glass nano silica abu
ampas tebu

y. Xylasin

z. Kloroform

aa. Ketamin

bb. Caviton

cc. HNO_3 2 M

dd. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

ee. P_2O_5

ff. NaOH

gg. Aquadest

hh. Alkohol 50%

ii. Betadine

jj. Handscoon

Lampiran B. Hasil Identifikasi Tanaman Tebu

 LIPI	<p align="center">(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046 website : http://www.krpurwodadi.lipi.go.id</p>	
<u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN</u>		
No: 620/IPH.06/HM/XI/2017		
Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:		
Nama	:	Meirisa Sawitri Hayyusari
NIM	:	141610101050
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	:	<i>Saccharum officinarum</i> L.
Referensi:		
<ol style="list-style-type: none"> 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		
 Kepala Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan Sugeng Budiharta, M.Sc, Ph.D		

Lampiran C. Surat Izin Penelitian



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

Nomor : 0968 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

02 FEB 2018

Kepada Yth
Kepala 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 | : Meirsa Sawitri Hayyusari |
| 2 | NIM | : 141610101050 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mojopahit C/1 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Mortar dan pastel, timbangan digital, dll |
| 9 | Waktu | : Nopember 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes
2. drg. R Rahardian Parnaadji, M.Kes Sp.Prof |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,



Dr. drg. H.A. Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



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

Nomor : 0468 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

02 FEB 2018

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 | : Meirsa Sawitri Hayyusari |
| 2 | NIM | : 141610101050 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mojopahit C/1 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Timbangan, kandang tikus, dll |
| 9 | Waktu | : Nopember 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes
2. drg. R Rahardian Parnaadji, M.Kes Sp.Pros |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,



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



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

Nomor : 0968/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

02 FEB 2018

Kepada Yth
Kepala Laboraturium 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 | : Meirsa Sawitri Hayyusari |
| 2 | NIM | : 141610101050 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mojopahit C/1 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Furnace, oven, timbangan, gelas ukur, dll |
| 9 | Waktu | : Nopember 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes
2. drg. R Rahardian Parnaadji, M.Kes Sp.Pros |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,

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



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

Nomor : 0968 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

02 FEB 2018

Kepada Yth
Kepala 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 : Meirsa Sawitri Hayyusari
- 2 NIM : 141610101050
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Mojopahit C/1 Jember
- 6 Judul Penelitian : Analisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
- 8 Data/Alat yang Dipinjam : Mikrotom, pinset, scalpel, parafin blok, dll
- 9 Waktu : Nopember 2017 s/d Selesai
- 1 Tujuan Penelitian : Untuk Menganalisis Pembentukan Dentin Reparatif Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu
- 11 Dosen Pembimbing : 1. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes
2. drg. R Rahardian Parnaadji, M.Kes Sp.Pro

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,



[Signature]
Dr. drg. Ida Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
 (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH
 DENTAL FACULTY UNIVERSITY OF JEMBER)

ETHIC COMMITTEE APPROVAL

No. 008/UN25.8/KEPK/DL/2018

Title of research protocol : "Analisis Pembentukan Dentin Reparative Oleh Gel Bioactive Glass Nanosilica Dari Abu Ampas Tebu"
 Document approved : Research Protocol
 Principal investigator : Miersa Savitri Hayyusari
 Member of research : -
 Responsible Physician : Miersa Savitri Hayyusari
 Date of approval : February 5th, 2018
 Place of research : 1. Bioscience Laboratory Politeknik Negeri Malang
 2. Pharmaceutics Laboratory in Faculty of Pharmacy
 University of Jember
 3. Biomedical Laboratory at Faculty of Pharmacy in
 University of Jember
 4. Anatomical Pathology Laboratory Medicine Faculty
 University of Brawijaya

The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry University of Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.

Jember, February 10th, 2018

Dean for Research, Community Service and
 Collaboration Faculty of Dentistry University
 of Jember



(Dr. Hartahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)

Chairman of Research Ethics Committee
 Faculty of Dentistry University of Jember



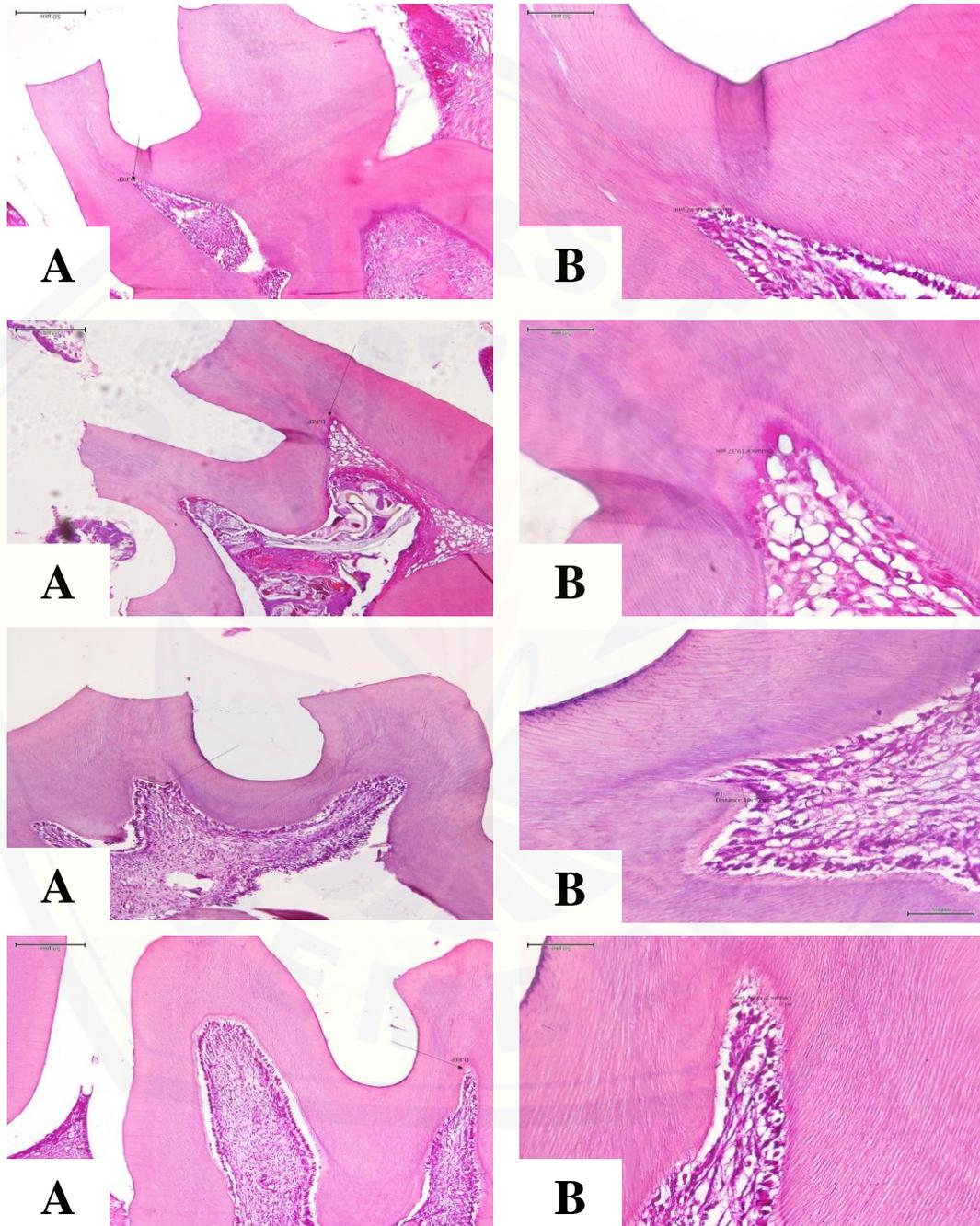
(Dr. I Dewa Ayu Susilawati, drg. M. Kes.)

ketebalan _dentin_r eparatif	Equal variance s assumed	1,03 1	,34 9	- 11,47 5	6 0	,00 0	- 3,8425 0	,3348 5	- 4,66 184	- 3,02 316
	Equal variance s not assumed			- 11,47 5	4, 3 0 7	,00 0	- 3,8425 0	,3348 5	- 4,74 666	- 2,93 834



Lampiran E. Gambar Dentin Reparatif

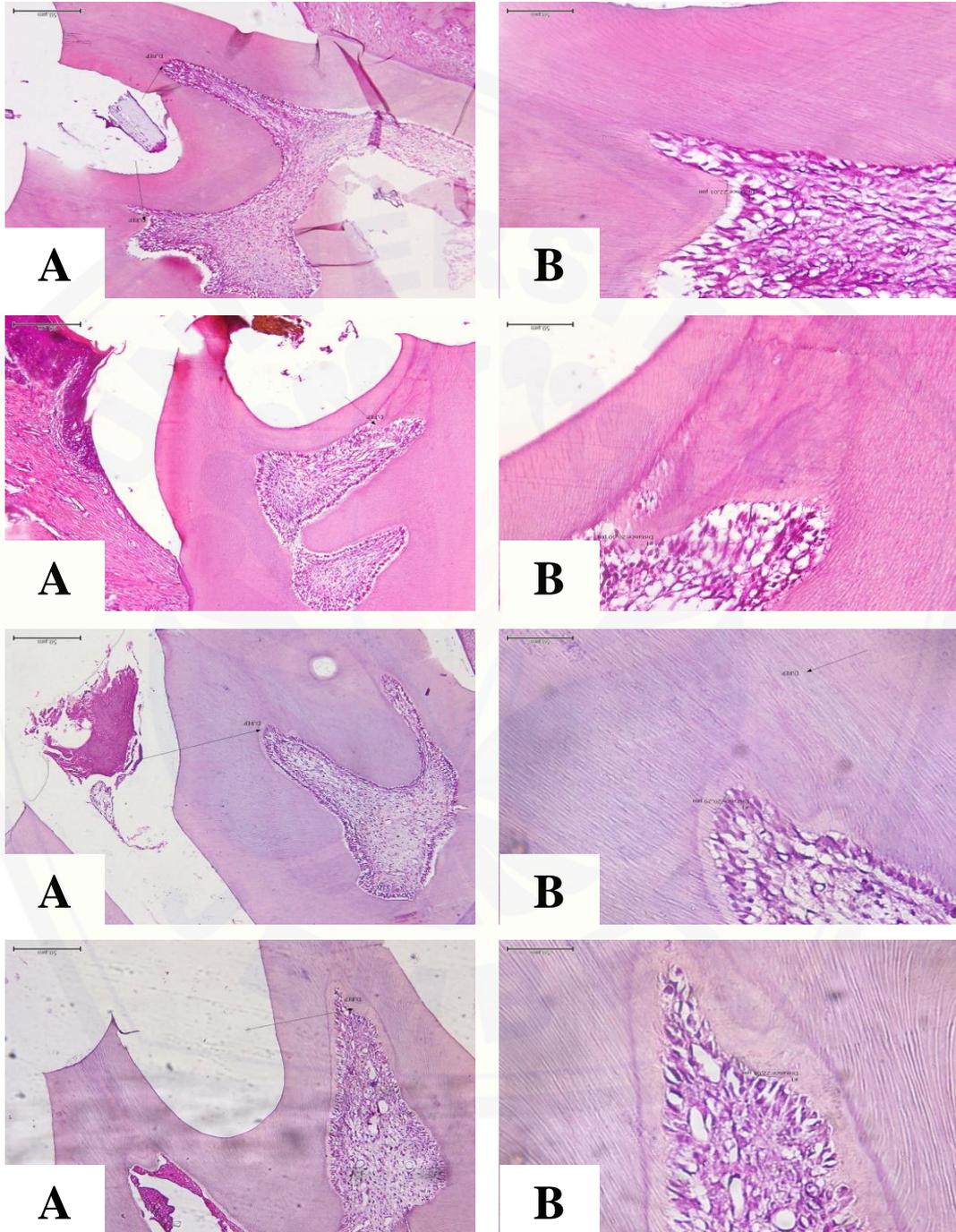
E.1 Gambaran histologis kelompok kontrol dengan caviton hari ke-28 dengan perbesaran 100x dan 400x dengan pewarnaan H&E.



Keterangan :

- A = Gambaran histologis dengan perbesaran 100x
- B = Gambaran histologis dengan perbesaran 400x

E.2 Gambaran histologis kelompok perlakuan dengan gel *bioactive glass nanosillica* hari ke-28 dengan perbesaran 100x dan 400x dengan pewarnaan H&E.

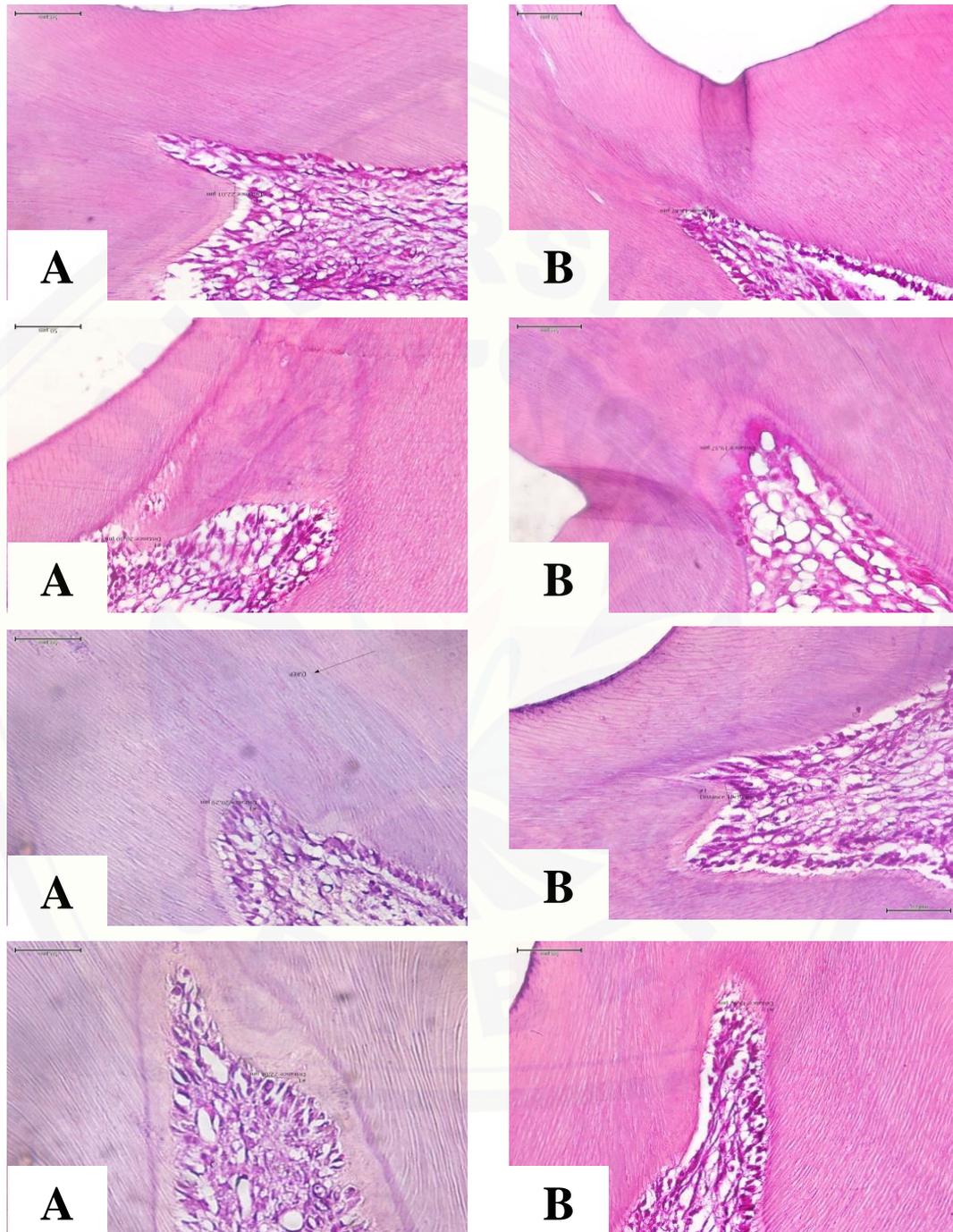


Keterangan :

A = Gambaran histologis dengan perbesaran 100x

B = Gambaran histologis dengan perbesaran 400x

E.3 Gambaran histologis perbandingan kelompok kontrol dengan caviton dan kelompok perlakuan dengan gel *bioactive glass nanosillica* pada hari ke-28 dengan perbesaran 400x dengan pewarnaan H&E.



Keterangan :

- A = Gambaran histologis dengan perbesaran 400x kelompok perlakuan
- B = Gambaran histologis dengan perbesaran 400x kelompok kontrol