



**PENGARUH *BIOACTIVE GLASS NANO SILICA* ABU AMPAS  
TEBU TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL PADA PULPA  
GIGI TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Nanik Rahmawati  
NIM 141610101006**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

**PERSETUJUAN PEMBIMBING**

Proposal berjudul “ Pengaruh *Bioactive Glass Nano Silica* Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pada Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan” telah disetujui pada :

hari, tanggal : Senin, 19 Maret 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

drg. Niken Probosari, M.Kes

drg. Dyah Indartin Setyowati, M.kes

NIP196702201999032001

NIP 196809301997022000



**PENGARUH *BIOACTIVE GLASS NANO SILICA* ABU AMPAS  
TEBU TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL PADA PULPA  
GIGI TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Nanik Rahmawati  
NIM 141610101006**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Niken Probosari, M.kes.  
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Dyah Indartin Setyowati, M.kes

Penguji :

Dosen Penguji Ketua : drg. Sri Lestari, M.kes.  
Dosen Penguji Anggota : Dr.drg. Didin Erma Indahyani, M.kes.

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmaanirrohim, atas izin Allah SWT, dan dengan rasa syukur serta kerendahan hati, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Kedua orangtua saya, Ayah Akhmad Muharjo dan Ibu Khaula;
2. Kakak saya Rafsanjani Ahmad dan adik saya Sahra Nova Santi Amala;
3. Dosen pembimbing dan dosen penguji saya yang selalu menjadi panutan;
4. Guru-guru saya yang telah memberikan bekal ilmu dan pendidikan sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

“Uthlubul ilma minal mahdi ilal lahdi”

(Carilah Ilmu mulai dari tempat ayunan bayi sampai ke liang lahad)

Hadist

(Hadist Maudhu’\*)

“Fainnama’al ushri yusroon, innama’al ushrii yusron”

((Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu) atau kesukaran itu ( ada kelapangan) yakni kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan)

(Q.S Al Insyirah : 5-6\*\*)

---

\*)Hadist Maudhu’

\*\*)Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al- Qur’an dan Terjemahannya*. Solo : PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nanik Rahmawati

NIM : 141610101006

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh bioactive glass nano silica abu ampas tebu terhadap jumlah neutrofil pada pulpa gigi tikus wistar jantan” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember , 19 Maret 2018

Yang menyatakan,

(Nanik Rahmawati)

NIM 141610101006

**SKRIPSI**

**PENGARUH BIOACTIVE GLASS NANO SILICA ABU AMPAS TEBU  
TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL PADA PULPA GIGI TIKUS  
WISTAR JANTAN**

**Oleh :**

**Nanik Rahmawati**

**NIM 141610101006**

**Pembimbing**

**Dosen Pembimbing Utama : drg. Niken Probosari, M.Kes**

**Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Dyah Indartin S., M.Kes**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh bioactive glass nano silica abu ampas tebu terhadap jumlah neutrofil pada pulpa gigi tikus wistar jantan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Senin, 19 Maret 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

drg. Sri Lestari, M.kes

NIP 196608191996012001

Penguji Anggota

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

NIP 196903031997022001

Pembimbing Utama

drg.Niken Probosari,M.Kes

NIP196702201999032001

Pembimbing Pendamping

drg. Dyah Indartin S., M.kes

NIP 196809301997022000

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universits Jember

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

NIP 196901121996011001



## RINGKASAN

**Pengaruh Bioactive Glass Nano Silica Abu Ampas Tebu terhadap Jumlah Neutrofil pada Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan;** Nanik Rahmawati, 141610101006; 2018: 89 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Neutrofil adalah garis pertahanan pertama tubuh terhadap invasi bakteri, bersifat sangat fagositik dan sangat aktif. Neutrofil berperan penting pada respon radang akut, dimana terjadi perubahan-perubahan vaskuler dan eksudasi (Guyton dan Hall, 2007). Ketika proses radang akut dapat ditekan, proses ini akan berakhir dengan terjadinya apoptosis dari sel neutrofil yang masih hidup, yaitu suatu proses yang merupakan regulasi dari bunuh diri sel. Selanjutnya neutrofil yang melakukan apoptosis akan terisolasi dari daerah infeksi. Apoptosis akan menekan resiko kerusakan jaringan dengan melepaskan oksigen reaktif dan meningkatkan perbaikan terhadap repon infeksi (Robbins dan Kumar, 1995).

Bahan *bioactive glass* (BAG) merupakan bahan yang dapat meregenerasi dentin dengan membentuk lapisan *hidroksi karbonat apatit* setelah bereaksi dengan cairan tubuh (Jones, 2013). Dalam penelitian ini, jenis *bioactive glass* yang digunakan adalah *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu sebagai suatu bahan alternatif. Pemilihan bahan tersebut bertujuan untuk menurunkan inflamasi dengan cara membentuk *hidroksi karbonat apatit* (HCA) sehingga dapat merangsang *transformation growth factor* (TGF- $\beta$ ) untuk menginisiasi sel – sel osteoblast membentuk matriks ekstraselular (kolagen) di atas lapisan HCA. TGF- $\beta$  famili merupakan *growth factor* yang dapat mengurangi respon inflamatori dalam pulpa dengan cara menghambat *tumor necrosis factor* (TNF- $\alpha$ ). Penghambatan TNF- $\alpha$  oleh TGF- $\beta$  menyebabkan tidak terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan menghambat adhesi neutrofil, sehingga akan terjadi penurunan infiltrasi neutrofil (Octiara, 2015; Kusumastuti dkk., 2014).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan bahan tersebut terhadap sel inflamasi terutama sel neutrofil pada pulpa gigi tikus wistar jantan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories

dengan rancangan penelitian *the post test with control group design*. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan. Preparasi pada gigi molar satu rahang atas regio kiri tikus dan diperforasikan menggunakan ujung sonde. Tikus dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dipapar caviton, dan kelompok perlakuan dipapar *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu. Masing-masing kelompok tersebut dibagi lagi menjadi dua sub kelompok, yaitu sub kelompok hari ke-3 dan sub kelompok hari ke-7. Tikus didekapitasi pada hari ke-3 dan ke-7 kemudian dilakukan pembuatan sediaan histologi dan dilakukan pengamatan jumlah neutrofil pada area di bawah preparasi kavitas dengan 3 lapang pandang yang berbeda oleh 3 pengamat.

Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji parametrik *one way ANOVA* menunjukkan signifikansi 0,000 ( $p > 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan jumlah neutrofil antar kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *Least Significance Different (LSD)*. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa terdapat hasil yang signifikan pada kelompok kontrol hari ke-3 dan ke-7 ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok perlakuan hari ke-3 dan hari ke-7 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah neutrofil yang bermakna dengan ( $p > 0,05$ ) antara kelompok powder BAG hari ke-3 dan hari ke-7.

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan infiltrasi sel neutrofil lebih cepat setelah pemberian *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu dibandingkan dengan kelompok yang dipapar caviton. Sehingga dapat disimpulkan bahwa BAG nano silica abu ampas tebu dapat menurunkan sel neutrofil pada gigi tikus yang terinflamasi.

## PRAKATA

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

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

1. Allah SWT atas berkat rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Orang tua tercinta, Bapak Akhmad Muharjo dan Ibu Khaula yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dan semangat;
3. Kakak saya tercinta Rafsanjani Ahmad dan adik saya tersayang Sahra Nova Santi Amala yang dengan tulus memberikan doa dan dukungan;
4. drg. R. Rahardyan Parna adji, M.Kes., Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Dr. drg. IDA Susilawati, M.kes., selaku Pembantu dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas kedokteran Gigi universitas jember;
7. drg. IzzataBarid, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. drg. Niken Probosari, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Dyah Indartin Setyowati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
9. drg. Sri Lestari, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes selaku Dosen penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
10. Mas Taufan selaku teknisi laboratorium Biosains Politeknik Jember;

11. Mbak Dini selaku teknisi laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember;
12. Bapak Mijan selaku teknisi laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya;
13. My research partner, Wawan, Yuniko, Umil, Irsa, Rusella, Erfika, dan Lady yang selalu bekerjasama dan memberi semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
14. Sahabat saya Atik, Nodi, Faiz, Rizqi Teguh, Nadia Farhatika, yang selalu memberikan motivasi, canda, tawa, dan bantuan dalam menulis skripsi ini;
15. Sahabat Nim dekat saya Nabilah, Sinta, Dini, Arie, Umil, Lady, Nanik, Rusella dan Irsa yang selalu memberi motivasi dan semangat kepada penulis;
16. Teman belajar saya, Erlita, Najla, Lintang, dan Prizca yang selalu sabar mengajari saya menyusun skripsi ini;
17. Mbak Catur, Mas hendra, Mas Andika, terimakasih atas bimbingannya;
18. Teman-teman FKG 2014 atas bantuan, kerjasama dan kebersamaannya selama ini;
19. My precious one, who have always supported me since the beginning;
20. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 19 Maret 2018

Penulis

**DAFTAR ISI**

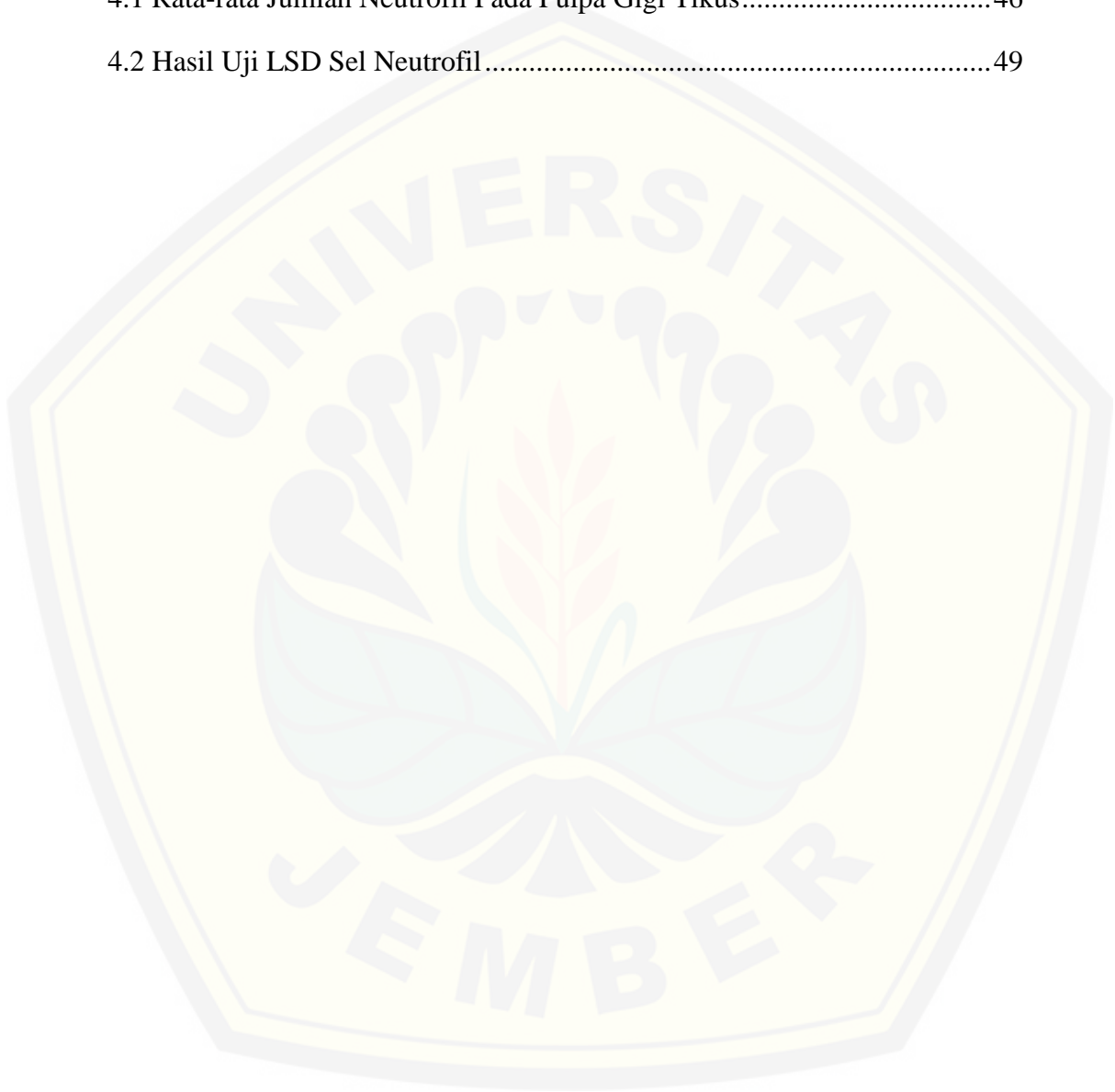
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Proses Pembentukan Jembatan Dentin .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Tahap Inflamasi .....	4
2.1.2 Tahap Proliferasi.....	5
2.1.3 Tahap Pembentukan dentin Tersier .....	5
<b>2.2 <i>Bioactive Glass</i> Menurunkan Inflamasi .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Jenis <i>Bioactive Glass</i> .....</b>	<b>7</b>
2.3.1 Bioactive Glass Silica .....	8
2.3.2 Metode Sol-Gel Untuk Bioactive Glass Nano Silica.....	9
<b>2.4 Nano Partikel.....</b>	<b>9</b>

2.4 Nano Partikel Silica .....	10
<b>2.5 Tanaman Tebu .....</b>	<b>11</b>
2.5.1 Abu Ampas Tebu .....	13
<b>2.6 Definisi Radang .....</b>	<b>15</b>
2.6.1 Macam Radang .....	15
<b>2.7 Neutrofil PMN .....</b>	<b>17</b>
2.7.1 Morfologi Neutrofil .....	17
2.7.2 Membran Sel Neutrofil .....	18
2.7.3 Mekanisme Neutrofil dalam Pertahanan Tubuh .....	19
<b>2.8 Kerangka Konsep .....</b>	<b>23</b>
<b>2.9 Hipotesis .....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>25</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>25</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	25
3.3.2 Variabel Terikat .....	25
3.3.3 Variabel Terkendali .....	25
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>26</b>
3.4.1 Abu Ampas Tebu .....	26
3.4.2 Bioactive glass Nano Silica Abu Ampas Tebu .....	26
3.4.3 Dekapitasi .....	26
3.4.4 Neutrofil .....	27
<b>3.5 Sampel Penelitian .....</b>	<b>27</b>
3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian .....	27

3.5.2 Pengelompokan Sampel Penelitian.....	28
3.5.3 Jumlah Sampel .....	30
<b>3.6 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>32</b>
3.6.1 Alat Penelitian.....	31
3.6.2 Bahan Penelitian .....	32
<b>3.7 Cara Kerja.....</b>	<b>33</b>
3.7.1 Tahap Persiapan .....	33
3.7.2 Tahap Perlakuan hewan Coba Tikus Wistar Jantan.....	37
3.7.3 Pengambilan Sampel dan Pembuatan Preparat Histologi	39
3.7.4 Pewarnaan Preparat Histologi.....	41
3.7.5 Pengamatan Sediaan Preparat Histologi .....	43
<b>3.8 Analisis Data.....</b>	<b>43</b>
<b>3.9 Alur Penelitian .....</b>	<b>44</b>
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>45</b>
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>51</b>
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>55</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>55</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>

**DAFTAR TABEL**

2.1 Tabel Unsur Kimia Abu Ampas Tebu .....	14
4.1 Rata-rata Jumlah Neutrofil Pada Pulpa Gigi Tikus.....	46
4.2 Hasil Uji LSD Sel Neutrofil.....	49





**DAFTAR GAMBAR**

2.1	Tanaman Tebu.....	12
2.2	Proses Penggilingan Tebu .....	14
2.3	Neutrofil .....	18
2.8	Kerangka konsep.....	23
3.1	Abu ampas tebu.....	26
3.2	Dislokasi servikal .....	27
3.3	Neutrofil .....	27
3.4	Pembakaran ampas tebu menjadi abu .....	34
3.5	Pembakaran abu dalam furnace bersuhu 900°C.....	34
3.6	Mengayak abu ampas tebu dengan ayakan mesh.....	34
3.7	Menyaring abu ampas tebu dengan kertas saring whatman.....	35
3.8	Hasil penyaringan berupa natrium silica basah.....	35
3.9	Pengeringan tahap akhir dengan alat furnace.....	37
3.10	Hasil akhir powder BAG nano silica abu ampas tebu.....	37
3.11	Fiksasi tikus dengan posisi terlentang.....	37
3.12	Bentuk preparasi pada gigi M1 hewan coba .....	38
3.13	Preparasi gigi M1 rahang atas .....	38
3.14	a. Membius hewan coba dengan kloform secara inhalasi .....	39
	b. Dislokasi servikal pada leher hewan coba .....	39
3.15	Pemotongan jaringan rahang atas hewan coba.....	39
3.16	Pemisahan jaringan lunak dengan jaringan keras .....	40
3.17	Fiksasi jaringan dengan larutan buffer formalin 10% .....	40
3.18	Penanaman jaringan pada Blok Paraffin .....	41
3.19	a. Penyatan Blok Paraffin Menggunakan Mikrotom.....	41

b. Meletakkan Sayatan diatas Waterbath.....	41
3.20 Deparaffinisasi preparat kedalam <i>xylol</i> dengan wadah yang- berbeda.....	42
3.21 Rehidrasi alkohol 100% dan 95% .....	42
3.22 Sketsa pengamatan dengan pola huruf V .....	43
4.1 Grafik rata-rata Jumlah neutrofil pada pulpa gigi tikus- wistar jantan pada kelompok kontrol dan perlakuan .....	46
4.2 Gambar histologi neutrofil perbesaran 1000x.....	46
4.3 Gambar histologi neutrofil kelompok kontrol hari ke-3 pada jaringan pulpa .....	47
4.4 Gambar histologi neutrofil kelompok perlakuan hari ke-3 pada jaringan pulpa.....	47
4.5 Gambar histologi neutrofil kelompok kontrol hari ke-7 pada jaringanpulpa.....	48
4.6 Gambar histologi neutrofil kelompok perlakuan hari ke-3 pada jaringan pulpa.....	48

**DAFTAR LAMPIRAN**

A.	Hasil analisis perhitungan jumlah neutrofil .....	59
B.	Analisis data .....	60
	B.1 Hasil uji normalitas menggunakan saphiro-wilk .....	60
	B.2 Hasil uji homogenitas menggunakan levene test .....	60
	B.3 Hasil uji statistic parametric menggunakan one way ANOVA ....	60
	B.4 Hasil uji LSD .....	61
C.	Foto alat dan bahan penelitian .....	62
	C.1 Foto alat penelitian.....	62
	C.2 Foto bahan penelitian .....	65
D.	Surat keterangan.....	66
	D.1 Etichal clearance .....	66
	D.2 Surat identifikasi tanaman tebu.....	67
	D.3 Surat ijin penelitian pembuatan BAG nano silica- abu ampas tebu .....	68
	D.4 Surat ijin penelitian pembuatan sediaan preparat .....	69
	D.5 Surat Ijin Penelitian perlakuan hewan coba.....	70

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pulpa merupakan jaringan ikat longgar yang komposisinya sama dengan jaringan ikat tubuh lainnya yang tersusun oleh jaringan pembuluh darah dan saraf (Hargreaves & Goodis, 2002). Pulpa gigi dapat mengalami jejas oleh beberapa sebab diantaranya yaitu karies gigi, trauma, maupun prosedur restorasi yang dapat mengakibatkan pulpa terbuka. Pulpitis merupakan radang pada pulpa, akibat proses karies lanjut yang mengakibatkan pulpa mengalami peradangan. Kondisi radang pada pulpa sama dengan kondisi radang pada jaringan lain di seluruh tubuh manusia. Proses penyembuhan jaringan pulpa yang terkena jejas diantaranya meliputi inflamasi, sintesa kolagen dan pembentukan dentin reparatif. Pembentukan dentin reparatif diawali dengan pembentukan jembatan dentin. Pembentukan jembatan dentin dapat dibagi atas 4 tahapan yaitu (1) tahap inflamasi terjadi 1-5 hari setelah perawatan; (2) tahap proliferasi terjadi 3-7 hari setelah perawatan; (3) Tahap pembentukan osteodentin terjadi 5-14 hari setelah perawatan; dan (4) tahap pembentukan dentin tubular > 14 hari setelah perawatan.

Tahap inflamasi merupakan respon pertahanan pulpa terhadap jejas dan mekanisme yang dibutuhkan untuk meningkatkan struktur dan fungsi jaringan pulpa, respon pertahanan ini ditandai dengan infiltrasi sel leukosit polimorfonuklear (PMN) di tempat terjadinya jejas (Puspita, 2015). Pada fase inflamasi melibatkan respon seluler dan vaskular, salah satu sel yang bertugas ketika terjadi inflamasi adalah neutrofil. Neutrofil merupakan garis depan pertahanan seluler terhadap invasi jasad renik, memfagosit partikel kecil dengan aktif (Teohardi, 2015). Neutrofil juga menghasilkan defensin, suatu zat yang mampu membunuh bakteri, jamur, dan virus. Pada awal proses peradangan (30 menit sampai dengan 1 jam) Neutrofil akan melakukan fagositosis dengan cepat, proses yang ditempuh untuk dapat terjadinya fagositosis yaitu neutrofil menginfiltrasi ke dalam jaringan yang terluka dengan cara menghasilkan beberapa faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) untuk menarik sel neutrofil dan

makrofag ke daerah yang terkena cedera (Lutfiyah, 2016). TGF- $\beta$  menginisiasi sel progenitor yang ada didalam pulpa untuk berdiferensiasi menjadi *odontoblast like cell*. Tahap inflamasi ini dapat berlangsung antara 1 sampai 4 hari (Abdurrahmat, 2014). Namun, perlu suatu mekanisme agar reaksi inflamasi tidak berlanjut sehingga tidak mengakibatkan kerusakan yang fatal. Reaksi inflamasi yang berlebihan dapat mengakibatkan pembengkakan pada jaringan (Greenspan dkk., 2013).

*Bioactive glass* dilaporkan mampu meregenerasi tulang, termasuk juga meregenerasi dentin. Mekanisme bahan *bioactive glass* meregenerasi dentin dengan membentuk lapisan *hidroksi karbonat apatit* setelah bereaksi dengan cairan tubuh (Jones, 2013). Selain itu, *Bioactive glass* juga memiliki sifat sebagai anti-inflamasi dengan cara menekan produksi *tumor necrosis factor* (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  dapat menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah dengan cara merangsang endotel untuk memproduksi faktor kemotaktik yang berperan dalam proses pergerakan dan adhesi leukosit (Enggardipta dkk., 2016). Penghambatan sintesa interleukin-1 (IL-1) dan TNF- $\alpha$  menyebabkan tidak terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan menghambat adhesi neutrofil pada dinding pembuluh darah, yang mengakibatkan infiltrasi neutrofil dalam jaringan turun dan inflamasinya berkurang (Kusumastuti dkk., 2014). Selain itu, *Bioactive glass* juga mampu merangsang TGF- $\beta$ , yang berperan mengurangi respon inflamatori dalam pulpa. *Growth factor ini* dilepaskan selama terjadinya *injuri*, iritasi bakteri, dan inflamasi pada pulpa (Kinasih, 2016; Octiara, 2015).

*Bioactive glass* tersusun dari bahan *silica*. Salah satu jenis *bioactive glass* adalah berjenis *bioactive glass silica*. Contoh *bioactive glass silica* adalah *bioglas 45S5*. Namun, adanya kendala importir menyebabkan bahan tersebut masih jarang digunakan di Indonesia dan bahan tersebut juga tidaklah murah. Oleh karena itu dibutuhkan bahan yang murah dengan efek samping minimal. Hal tersebut dapat diperoleh dari bahan alam yang banyak dijumpai di sekitar kita yang mengandung silika, salah satunya yaitu dari abu ampas tebu.

Ampas tebu merupakan limbah yang kurang dimanfaatkan. Menurut data FAO tahun 2006, Indonesia menduduki peringkat ke-11 dalam produksi tebu

dunia, yakni 25.500 juta ton per tahunnya. Hasil olahan tebu menjadi gula menyisakan ampas tebu yang digunakan sebagai bahan bakar pada tungku produksi sehingga menjadi abu ampas tebu. Abu ampas tebu ini memiliki kandungan silika sebesar 70% (Kristianingrum dkk., 2011). Silika tersebut dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan *bioactive glass nano silica* sebagai bahan regenerasi dentin serta dapat menurunkan jumlah neutrofil pada proses peradangan.

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu sebagai bahan regenerasi dentin terhadap sel inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *bioactive glass nano silica* abu ampas tebuterhadap jumlah sel neutrofil pada pulpa gigi tikus wistar jantan yang terinflamasi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah penggunaan *bioactive glass nano silica* sebagai bahan regenerasi dentin dapat mempengaruhi jumlah neutrofil?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh penggunaan *bioactive glass nano silica* sebagai bahan regenerasi dentin terhadap jumlah sel neutrofil.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menghasilkan bahan *bioactive glass nano silica* yang biokompatibel dari abu ampas tebu sebagai bahan regenerasi dentin.
2. Memanfaatkan limbah dari abu ampas tebu agar mempunyai nilai jual di masyarakat khususnya dibidang kedokteran gigi.
3. Dapat dijadikan sebagai acuan pengembangan penelitian selanjutnya mengenai sifat lain bahan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Proses pembentukan jembatan dentin

Pembentukan jembatan dentin dapat dibagi menjadi beberapa tahap yaitu:

#### 2.1.1 Tahap inflamasi

Inflamasi atau peradangan merupakan mekanisme penting yang dibutuhkan untuk meningkatkan struktur dan fungsi jaringan sebagai mekanisme perlindungan terhadap jejas. Inflamasi ditandai dengan aliran cairan, protein plasma, dan leukosit PMN ke arah jaringan yang terkena jejas. Sel yang berhubungan dengan reaksi radang pada jaringan pulpa meliputi sel leukosit polimorfonuklear, limfosit, sel plasma, makrofag dan sel mast. Berat ringannya respon inflamasi ini tergantung dari jumlah jaringan yang mengalami kerusakan dan adanya bakteri. Bila terdapat bakteri, maka sel neutrofil akan tampak 12-48 jam setelah terjadi jejas. Neutrofil akan melakukan fagositosis dengan cepat dan selanjutnya mati akibat kehadiran beberapa mikroorganisme yang memiliki virulensi lebih tinggi dari neutrofil. Neutrofil juga akan mengalami apoptosis (kematian terprogram). Hal ini juga dapat terjadi karena tugas neutrofil sebagai pertahanan pertama ini segera digantikan oleh sel makrofag sebagai sel pertahanan seluler yang kedua dan fungsi neutrofil juga akan digantikan oleh makrofag dalam memfagosit bakteri pada daerah yang mengalami inflamasi, sehingga jika proses yang terjadi berjalan dengan baik, maka jumlah neutrofil akan semakin berkurang pada hari berikutnya. Penurunan jumlah neutrofil menandakan bahwa penyembuhan masuk ke tahap berikutnya, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan inflamasi.

Dua sampai tiga hari setelah terjadi jejas, monosit di dalam pembuluh darah bermigrasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang berfungsi melanjutkan proses fagositosis yang dilakukan oleh neutrofil. Kehadiran makrofag tersebut akan mengeluarkan sitokin pro-inflamasi yang berupa TGF- $\beta$  yang menginisiasi sel progenitor yang ada didalam pulpa untuk berdiferensiasi menjadi

*odontoblas like cell*. Tahap inflamasi ini dapat berlangsung antara 1 sampai 4 hari (Abdurrahmat, 2014).

### 2.1.2 Tahap proliferasi

Makrofag merupakan sel yang tersebar luas di berbagai jaringan, merupakan fagosit, antigen processing dan antigen presenting cells (APC) serta merupakan sel yang menghasilkan berbagai macam mediator. Berbagai jenis mediator yang disintesis oleh makrofag antara lain adalah TGF- $\beta$  (*transforming growth factor*) (widjajanto, 2005).

TGF- $\beta$  famili merupakan *growth factor* yang ditemukan pada dentin, dan berperan pada signalling differensiasi odontoblas selama perkembangan gigi. TGF-b juga membantu mengurangi respon inflamatori dalam pulpa. *Growth factor ini* dilepaskan selama terjadinya dental injuri. Adanya iritasi bakteri, dan inflamasi pada pulpa pada karies yang mencapai pulpa (Octiara, 2015).

### 2.1.3 Tahap pembentukan dentin tersier

Dentin tersier dibentuk sebagai respon terhadap pengaruh luar yaitu karies gigi, keausan gigi karena pengunyahan, trauma, maupun jejas lain yang mengenai gigi. Dentin tersier diklasifikasikan menjadi dua yaitu dentin reaksioner dan dentin reparatif (Puspita, 2014).

#### 1. Dentin reaksioner

Dentin reaksioner merupakan respon jaringan pulpa terhadap adanya kerusakan atau iritasi pada email atau dentin yang tidak mengakibatkan kematian sel odontoblas. Kerusakan ini biasanya ringan atau sedang seperti pada proses karies email yang aktif atau karies dentin yang berjalan lambat. Matrik dentin disekresikan oleh odontoblas primer yang dapat bertahan dari jejas yang mengenai gigi. Proses pembentukan dentin reaksioner terjadi pada saat kondisi odontoblas masih vital sehingga respon yang timbul tidak berupa pembaharuan sel, tetapi prosesnya hanya melibatkan pengaturan aktivitas odontoblas sebagai respon adanya kerusakan yang terjadi. Pembentukan dentin reaksioner diatur oleh pelepasan beberapa faktor pertumbuhan dari matrik dentin selama kerusakan



berlangsung. Faktor pertumbuhan memiliki peran dalam mengatur proliferasi sel, menjaga homeostasis, sebagai mediator diferensiasi odontoblas dan mineralisasi dentin serta perbaikan jaringan gigi setelah terjadi jejas (Puspita, 2014).

## 2. Dentin reparatif

Dentin reparatif dibentuk sebagai respon adanya kerusakan struktur gigi yang mengakibatkan kematian sel odontoblas, sebagai contohnya adalah proses karies yang cepat dan trauma pada gigi. Odontoblas merupakan sel yang tidak dapat melakukan *repair* setelah terkena jejas, sehingga fungsi odontoblas primer dalam merespon jejas digantikan oleh *odontoblast like cells* (Puspita, 2014).

*Odontoblast like cells* berasal dari progenitor sel pulpa yang mengalami diferensiasi. Sel progenitor ini menginduksi signal molekuler untuk menginduksi proliferasi, migrasi dan diferensiasi *odontoblast like cells*. Setelah odontoblas berdiferensiasi, terjadi pelepasan faktor pertumbuhan oleh matrik dentin yang merupakan signal molekuler bagi proses pembentukan dentin reparatif oleh *odontoblast like cells* yang berdiferensiasi. Beberapa faktor pertumbuhan yaitu *transformation growth factor* (TGF- $\beta$ ) secara langsung terlibat dalam sitodiferensiasi odontoblast like cells. Jaringan pulpa yang terbuka dalam proses *repair* mengalami mekanisme berupa interaksi antar molekul ekstra seluler, yaitu fibrodentin dan faktor pertumbuhan dengan menginduksi diferensiasi *odontoblast like cell* serta dentinogenesis. TGF- $\beta$ 1 dan TGF- $\beta$ 3 merupakan faktor pertumbuhan yang dapat mengatur pembentukan matrik dentin oleh odontoblas (Puspita, 2014).

Remineralisasi dentin juga dapat dirangsang dari pemberian suatu bahan, salah satunya adalah bahan bioactive glass. Studi pertama pada remineralisasi dentin oleh *bioactive glass nano silica* dilakukan oleh Wang et al, Hasil penelitian menunjukkan bahwa *bioactive glass nano silica* mengakibatkan peningkatan yang tinggi pada kandungan mineral dan menghasilkan proses remineralisasi yang cepat (Sulistian, 2016). Pada studi kultur sel secara in vitro, bahan bioactive glass tersebut juga dapat menurunkan respon inflamasi (Hoppe dkk., 2011).

## 2.2. *Bioactive glass* menurunkan Inflamasi

Bahan dikatakan bioaktif, jika memberikan hasil dan respon biologis dalam pembentukan ikatan antara materi dan jaringan. Wilson dkk (1981) mereview dan mengkaji, mengusulkan bahwa *Bioactive glass* aman untuk penggunaan klinis. *Bioactive glass* adalah subset dari bahan bioaktif anorganik, yang mampu bereaksi dengan cairan fisiologis untuk membentuk ikatan ulet ke tulang melalui pembentukan hidroksiapatit dan interaksi biologis kolagen dengan permukaan bahan. Secara tradisional, bioaktif glass telah digunakan untuk mengisi dan mengembalikan cacat tulang. Baru-baru ini, kategori biomaterial ini telah menjadi bidang penelitian yang muncul untuk aplikasi teknik jaringan tulang. Kemudian, aplikasi klinis lain bioaktif glass yang diusulkan, misalnya dalam *Periodontology* atau sebagai lapisan pada ortopedi implan logam (Reis & Chiellini, 2008).

*Bioactive glass* dilaporkan mampu meregenerasi tulang, termasuk juga meregenerasi dentin. Bahan *bioactive glass* meregenerasi dentin dengan membentuk lapisan *hidroksi carbonat apatit* (HCA) setelah bereaksi dengan cairan tubuh (Jones, 2013). Selain itu, *Bioactive glass* juga sebagai anti-inflamasi. Pembentukan (HCA) akan merangsang *transformation growth factor* untuk menginisiasi sel – sel osteoblast untuk membentuk matriks ekstraselular (kolagen) di atas lapisan HCA. TGF- $\beta$  famili merupakan *growth factor* yang ditemukan pada dentin, dan berperan pada signalling differensiasi odontoblas selama perkembangan gigi, dan berperan penting sebagai molekul signalling diferensiasi odontoblas. TGF- $\beta$  juga membantu mengurangi respon inflamatori dalam pulpa. *Growth factor ini* dilepaskan selama terjadinya dental injuri. Adanya iritasi bakteri, dan inflamasi pada pulpa pada karies yang mencapai pulpa (Octiara, 2015).

## 2.3 Jenis *Bioactive glass*

Beberapa jenis *bioactive glass* adalah :*Bioactive Glass Silica*, *Bioactive Glass Borate*, *Bioactive Glass Phosphate* (Rahaman dkk., 2011). *Bioactive glass borate* merupakan pengembangan dari *bioactive glass silica* yang di dalamnya

terdapat komposisi borat dengan jumlah besar sebagai pengganti silika. *Borate-glass* dapat disebut sebagai bahan bioaktif karena sifatnya yang dapat terdegradasi dan secara lebih cepat dapat membentuk lapisan HCA saat berkontak dengan cairan tubuh. Sedangkan *bioactive glass phosphate* juga merupakan pengembangan *bioactive glass silica* dengan modifikasi komposisi bahan  $P_2O_5$ ,  $Na_2O$ , dan  $CaO$  sedemikian rupa sehingga dapat terlarut dan membentuk ikatan lebih baik dengan tulang (Rahaman dkk., 2011). Fokus peneliti adalah membahas *bioactive glass silica* yang akan dibahas lebih dalam pada sub bab lain

### 2.3.1 Bioactive Glass Silica

Salah satu jenis *bioactive glass* adalah berjenis *bioactive glass silica*. Salah satu contoh *bioactive glass silica* adalah *bioglas 45S5*. *Bioactive glass 45S5* memiliki komposisi silikon dioksida ( $SiO_2$ ) (46.1 mol%), kalsium oksida ( $CaO$ ) (26.9 mol%), natrium oksida ( $Na_2O$ ) (22.4 mol%), dan difosfor pentaoksida ( $P_2O_5$ ) (2.6 mol%) yang mampu membentuk *Hidroksi Karbonat Apatit* (HCA) dalam waktu kurang dari 2 jam dan mengikat jaringan (Farooq dkk, 2012).

Ikatan *bioactive glass 45S5* untuk tulang telah dikaitkan dengan pembentukan hidroksiapatit karbonat tersubstitusi seperti lapisan (HCA) pada permukaan glass saat kontak dengan cairan tubuh. beberapa rincian dari perubahan kimia dan struktur yang tidak jelas lapisan HCA umumnya diyakini sebagai hasil dari urutan reaksi penyembuhan sebagai berikut :

Reaksi pertukaran antara ion *bioactive glass* ( $Na^+$  dan  $Ca^{2+}$ ) dengan  $H^+$  yaitu ion dari cairan tubuh, menyebabkan terjadinya hidrolisis silika dan terbentuknya silanol ( $Si-OH$ ). Selanjutnya, Peningkatan pH (konsentrasi  $OH^-$ ) menyebabkan  $SiO_2$  berubah dalam bentuk asam silikat  $Si(OH)_4$  dan pembentukan kelompok ikatan silanol ( $Si-OH$ ) akan terus berlanjut. Sementara kelarutan silika yang rendah akan terjadi pelepasan produk-produk dari 45S5 dalam cairan yang menunjukkan peningkatan konsentrasi Si, pelepasan silika merupakan mekanisme penting. Namun, mekanisme lain juga bisa berkontribusi terhadap peningkatan konsentrasi Si. Setelah itu, terjadi kondensasi dan polimerisasi dari  $SiO_2$  membentuk lapisan *silica gel*. pelepasan lebih lanjut dari

45S5, ditambah dengan migrasi ion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dan ion ( $\text{PO}_4$ )<sup>3-</sup> mengarah pada pembentukan amorf kalsium fosfat (ACP). Lalu, ACP menggabungkan ( $\text{OH}^-$ ) dan ( $\text{CO}_3$ )<sup>2-</sup> dan terjad kristalisasi sehingga terbentuk lapisan hidroksiapatit (Rahaman dkk., 2011).

### 2.3.2 Metode *Sol-Gel* untuk *Bioactive Glass*

*Bioactive glass* dapat dibentuk dengan menggunakan metode melt-cast atau metode sol-gel. Metode sol-gel memberikan alternatif daripada metode melt quenching. Pada metode sol-gel, prekursor digunakan untuk membentuk dan merakit nanopartikel menjadi gel disuhu ruang. Glass dibentuk setelah pengeringan dan pemanasan. Keuntungannya adalah diperoleh suhu fabrikasi yang lebih rendah dan kontrol yang lebih baik dan homogen. Selain itu, terdapat perbedaan hasil pada metode sol-gel yaitu didapat porositas luas permukaan yang lebih tinggi (Deliormanli dan Yildirim, 2016).

Perbedaan fisik dalam metode *traditional melt-quenching* dan sol-gel yang diturunkan adalah bahwa *bioactive glass* sol-gel cenderung memiliki *nanoporosity* (Jones, 2013). Sol-gel adalah metode pengolahan basah-kimia lebih tepat untuk menghasilkan *bioactive glass* sebagai metode alternatif peleburan tradisional, karena memungkinkan jangkauan yang lebih luas dan kemurnian  $\text{SiO}_2$  dari produk yang diperoleh lebih tinggi (Luz dan Mano, 2011).

## 2.4 Nano Partikel

Istilah “Nano” berasal dari kata Yunani *nan(n)os* yang berarti “kerdil”. Nanoteknologi adalah ilmu yang berhubungan dengan manipulasi materi pada tingkat atom. ilmu dan teknik yang terlibat dalam desain, sintesis, karakterisasi dan aplikasi bahan dan perangkat unit terkecil pengukuran satu dimensi adalah pada skala nanometer (satu sepermilyar dari satu meter,  $10^{-9}$  m) dianggap nanotechnology. Istilah nanoteknologi ini diperkenalkan oleh Norio Taniguchi pada tahun 1974. Kemudian pada tahun 1986, K. Eric Drexler memberikan kontribusi untuk pengembangan dengan memperkenalkan konsep nanoteknologi

molekul dalam publikasi 1986-“Mesin penciptaan: datangnya era nanoteknologi”. Konsep ini menyebabkan perkembangan dari material yang lebih ringan namun kuat dengan bahan kimia yang lebih tinggi. Sejak itu, nanoteknologi telah sangat maju dalam berbagai bidang ilmu pengetahuan, dan tidak terkecuali kedokteran gigi (Gligorijević dan Kostic, 2015).

Nanoteknologi mencakup pengembangan bahan, perangkat, dan sistem menunjukkan sifat yang berbeda dari yang ditemukan pada skala yang lebih besar. Penggunaan partikel dalam skala nano dapat membuka peluang baru dibidang biomedis, termasuk untuk memperbaiki tulang, berdasarkan kombinasi dari bahan-bahan tersebut dengan biopolimer, seperti luas permukaan meningkat, meningkatkan sifat mekanik, meningkatkan bioaktif bahan (Luz dan Mano, 2011).

#### 2.4.1 Nanopartikel silika

Nanopartikel silika mewakili salah satu dari nanomaterial yang tersebar luas dalam penggunaannya. Nanosilika merupakan partikel silica yang disintesis dalam ukuran yang berbeda , yaitu antara 50nm - 1 mikro meter (Stanley dan Nesara, 2014). Nanosilika memiliki beberapa ciri khas yakni (1) mudah dalam preparasi melalui reaksi hidrolisis-kondensasi dari prekursor yang relatif murah seperti *tetrachyl orthosilicate* (TEOS) dengan katalis asam atau basa, (2) memungkinkan modifikasi permukaan dengan variasi senyawa organosilikon, (3) biokompatibel tanpa menunjukkan adanya gejala toksik (Jung et al, 2012). Oleh karena ukurannya sangat kecil, dalam aplikasinya memberikan opasitas pada bahan kedokteran gigi, misalnya komposit sehingga estetikanya sangat baik dan sifat mekaniknya lebih baik dibanding bahan lain (Noraihan dkk., 2011). Nanosilika memiliki kestabilan yang sangat baik, inert secara kimia, bersifat biokompatibel yang mampu bekerja selaras dengan system kerja tubuh (Fernandez, 2012).

Sintesis nanosilika dapat dilakukan dengan 2 metode pendekatan utama yakni *top-down* dan *bottom-up*. *Top-down* ditandai dengan mengurangi dimensi dari ukuran aslinya dengan memanfaatkan teknik reduksi (pendekatan fisik).

*Bottom-up* atau pendekatan kimia melihat rute umum yang digunakan untuk memproduksi nanopartikel silika dari skala atom atau molekul. Beberapa metode yang banyak digunakan untuk sintesis nanosilika diantaranya sol-gel. Sol-gel secara luas digunakan untuk memproduksi silika murni karena kemampuannya untuk mengontrol ukuran partikel (Rahman dan Padavettan, 2012). Metode tersebut menyebabkan konsentrasi  $\text{SiOH}$  dan silanol tinggi pada permukaan sampel yang dapat mempromosikan pembentukan (nukleasi) hydroxyl carbonat apatit. Selain itu permukaan yang mikrostruktur pada nanosilika mempunyai volume porositas yang sangat tinggi dengan ukuran pori-pori kurang dari 2 nm, sehingga sesuai untuk menstimulasi pembentukan hidroksi apatit (Mabrouk dkk., 2012).

## 2.5 Tanaman Tebu

Tebu atau *Sugar Cane* dalam bahasa Inggris adalah tanaman yang memiliki klasifikasi sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
- Sub Kingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)
- Divisi : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)
- Kelas : *Liliopsida* (berkeping satu /monokotil)
- Sub Kelas : *Commelinidae*
- Ordo : *Poales*
- Famili : *Graminae atau Poaceae* (suku rumput-rumputan)
- Genus : *Saccharum*
- Spesies : *Saccharum officinarum Linn* (Tarigan dan Sinulingga 2006).



Gambar 2.2 Tanaman Tebu (koleksi pribadi, 2018).

Tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan tanaman perkebunan semusim. Tebu termasuk ke dalam famili *poaceae* atau lebih dikenal sebagai kelompok rumput-rumputan. Tebu tumbuh di dataran rendah daerah tropika dan dapat tumbuh juga di sebagian daerah subtropika. Manfaat utama tebu adalah sebagai bahan baku pembuatan gula pasir. Ampas tebu atau lazimnya disebut *bagasse* adalah hasil samping dari proses ekstraksi cairan tebu yang berasal dari bagian batang tanaman tebu. Dari satu pabrik dihasilkan ampas tebu sekitar 35-40% dari berat tebu yang digiling (Zultiniar dkk., 2011)

#### **a. Batang**

Tanaman tebu mempunyai sosok yang tinggi, kurus, tidak bercabang dan tumbuh tegak. Tinggi batangnya dapat mencapai lebih kurang 3-5 m. Kulit batang keras berwarna hijau, kuning, ungu, merah tua atau kombinasinya. Pada batang terdapat lapisan lilin yang berwarna putih ke abu-abuan dan umumnya terdapat pada tanaman tebu yang masih muda (Sinaga, 2011).

#### **b. Daun**

Daun tebu merupakan daun tidak lengkap, karena hanya terdiri dari pelepah dan helaian daun, tanpa tangkai daun. Daun berpangkal pada buku batang dengan kedudukan yang berseling. Pelepah memeluk batang, makin ke atas makin sempit. Pada pelepah terdapat bulu-bulu dan telinga daun (Sinaga, 2011).

**c. Akar**

Tebu mempunyai akar serabut yang panjangnya dapat mencapai satu meter. Sewaktu tanaman masih muda atau berupa bibit, ada 2 macam akar yaitu akar setek dan akar tunas. Akar setek/bibit berasal dari setek batangnya, tidak berumur panjang, dan hanya berfungsi sewaktu tanaman masih muda. Akar tunas berasal dari tunas, berumur panjang, dan tetap ada selama tanaman masih tumbuh (Sinaga, 2011).

**d. Bunga**

Bunga tebu merupakan bunga majemuk yang tersusun atas mulai dengan partumbuhan terbatas. Panjang bunga majemuk 70-90 cm. Setiap bunga mempunyai tiga daun kelopak, satu daun mahkota, tiga benang sari dan dua kepala putik (Sinaga, 2011).

**2.5.1 Abu Ampas Tebu**

Abu Ampas Tebu merupakan hasil pembakaran ampas tebu, ampas tebu pada umumnya oleh pabrik gula hanya digunakan sebagai bahan bakar untuk ketel uap, dimana ketel uap diperoleh tenaga untuk menggerakkan mesin penggiling tebu. Abu sesuai dengan terjadinya terdiri dari berbagai macam, seperti abu terbang, abu vulkanis, abu batu bara, dan sebagainya. Adapun proses terjadinya Abu Ampas Tebu adalah sebagai berikut :

Setelah tebu ditebang kemudian diangkut ke pabrik gula. Batang-batang tebu tersebut kemudian digiling untuk dikeluarkan air gulanya sehingga tertinggal ampas tebu yang dalam keadaan kering. Ampas tebu ini kemudian dengan peralatan mekanik diangkut ke dapur pembakaran ketel-ketel uap. Apabila ampas tebu tersebut telah terbakar halus/ habis abu tersebut dikeluarkan dari dapur pembakaran ke tempat pencampuran (Pandaleke, 2014).

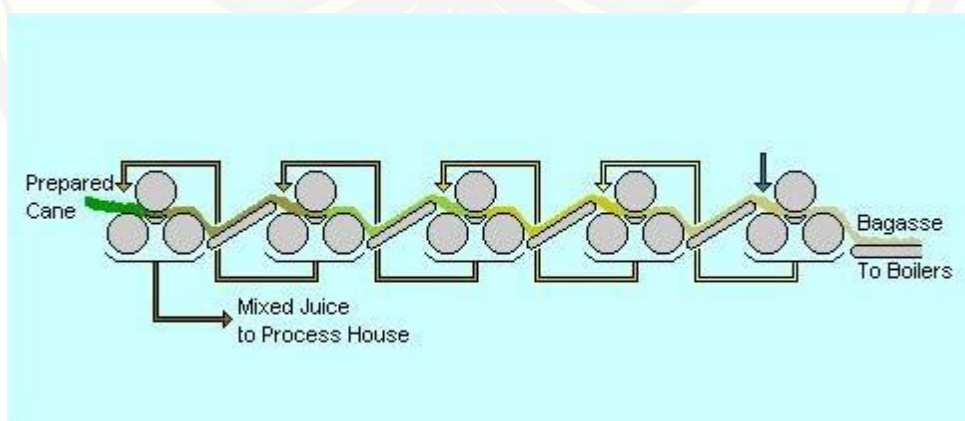
Berikut adalah tabel unsur kimia dari Abu Ampas Tebu :



Tabel 2.1 tabel unsur kimia abu ampas tebu

Unsur Kimia dalam Abu Ampas Tebu	
Kadar Air	3,79%
Kadar Abu	79,03 %
Kadar Karbon	10,91 %
Kadar Silikat	72,33 %
Kadar Magnesium	0,58 %
Kadar Kalsium	0,63 %
Kadar Aluminium	3,24 %
Kadar Besi (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0,58 %

Sumber : Balai penelitian dan pengembangan industri jatim proses penggilingan tebu, terdapat lima kali proses penggilingan dari batang tebu sampai dihasilkan ampas tebu. Pada penggilingan pertama dan kedua dihasilkan nira mentah yang berwarna kuning kecoklatan, kemudian pada proses penggilingan awal yaitu penggilingan pertama dan kedua dihasilkan ampas tebu basah (Wijayanti, 2009). Gilingan kedua harus ditambahkan susu kapur 3Be yang berfungsi sebagai senyawa yang mampu menyerap nira dari serat ampas tebu, sehingga pada penggilingan ketiga nira masih dapat diserap meskipun volumenya lebih sedikit dari hasil gilingan kedua. Pada penggilingan seterusnya hingga penggilingan kelima ditambahkan susu kapur 3Be dengan volume yang berbeda beda tergantung sedikit banyaknya nira yang masih dihasilkan



Gambar. 2.3 Proses penggilingan tebu (Nugraha,2013).

Kelebihan ampas (bagasse) tebu dapat membawa masalah bagi pabrik gula, ampas bersifat bulky (meruah) sehingga untuk menyimpannya perlu area

yang luas. Ampas mudah terbakar karena di dalamnya terkandung air, gula, serat dan mikroba, sehingga bila tertumpuk akan terfermentasi dan melepaskan panas. Terjadinya kasus kebakaran ampas di beberapa pabrik gula diduga akibat proses tersebut (Nugraha,2013).

## 2.6 Definisi Radang

Radang ialah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, dan cairan dari sel-sel tubuh di tempat jejas. Proses radang berperan dalam pemusnahan, melarutkan, dan membatasi agen penyebab jejas dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak pada tempat itu (Robbins & Kumar, 1995). Respon peradangan adalah salah satu mekanisme alami paling penting dan merupakan respon tubuh terhadap luka jaringan (Lawler dkk., 1992).

Radang merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan dan mengurangi baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera (Dorland, 2002). Menurut Price & Wilson (1995:35) proses radang adalah reaksi vaskuler yang hasilnya merupakan pengiriman cairan, zat-zat terlarut dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan intersisial pada daerah cedera atau nekrosis.

### 2.6.1 Macam Radang

Beberapa bentuk peradangan dapat timbul didasarkan atas jenis eksudat yang terbentuk, organ atau jaringan tertentu yang terlibat dan lamanya proses peradangan. Berdasarkan lama proses peradangan, terdapat 3 jenis radang yaitu radang akut, kronis dan subakut. Radang akut terjadi selama eksudasi aktif (awal), radang kronis jika ada bukti perbaikan yang sudah lanjut dan radang subakut jika ada bukti awal perbaikan bersama dengan eksudasi (Price & Wilson, 1995).

a. Radang akut

Menurut Robbins & Kumar (1995) radang akut merupakan awal atau perubahan dini yang terjadi dalam beberapa jam atau hari dan menunjukkan usaha tubuh untuk menghancurkan atau menetralkan agen penyebab. Respon akut biasanya ditandai perubahan-perubahan vaskuler dan eksudasi, sel darah putih yang ikut berperan pada reaksi akut pada dasarnya terdiri dari neutrofil PMN dan makrofag. Neutrofil PMN tampak pertama, sebagian besar disebabkan oleh mobilitasnya yang tinggi dan juga karena terdapat dalam jumlah banyak di sirkulasi darah.

Tahap-tahap mikroskopis biasanya berkaitan dengan perubahan-perubahan dinamis dalam pembuluh darah, aliran darah dan aktivitas leukosit, kemudian terjadi konstriksi arteriol sementara yang mungkin disebabkan oleh reflek neurogenik setempat, bisa berkembang tetapi hanya bertahan dalam beberapa menit. Kemudian terjadi dilatasi arteriol berkepanjangan yang diikuti oleh kenaikan aliran darah setempat (hiperemia) dan dilatasi kapiler setempat kemudian terjadi kenaikan permeabilitas kapiler yang disebabkan dua faktor utama, yang pertama yaitu dilatasi arteriol menaikkan tekanan hidrostatis kapiler menyebabkan aliran air lebih besar larut ke dalam cairan interstitial dan yang kedua yaitu peningkatan permeabilitas endothelial venular dan kapiler sehingga memungkinkan molekul lebih besar, khususnya albumin memasuki jaringan interstitial. Molekul-molekul ini merubah tekanan osmotik setempat dan menarik lebih banyak air ke dalam jaringan. Selanjutnya terjadi perlambatan aliran darah kapiler dan hemokonsentrasi intravaskuler dimana kenaikan konsentrasi protein plasma ini menghasilkan peningkatan viskositas darah yang kemudian diikuti oleh hilangnya aliran darah aksial normal. Secara normal, sel-sel darah mengalir di tengah kapiler dengan plasma yang relatif bebas sel (*cell free plasma*) menyentuh endotel. Dalam radang akut, sel-sel darah putih yang beredar, mula-mula neutrofil PMN kemudian monosit bergerak untuk menghasilkan penempaan leukosit (perataan tepi endotel) dilanjutkan dengan pengumpulan sel-sel darah merah ke tengah membentuk *rouleaux*. Selanjutnya terjadi perlekatan leukosit ke sel endotel kapiler diikuti dengan perpindahan aktif oleh gerakan amoeboid ke dalam jaringan

perivaskuler melalui celah-celah diantara sel endotel. Setelah berada di luar, leukosit pindah dengan cara kemotaksis yaitu proses dimana sel ditarik menuju substansi kimia tertentu yang konsentrasinya lebih tinggi. Pergerakan aktif ini menghasilkan akumulasi sejumlah leukosit di tempat yang sesuai dilanjutkan dengan proses fagositosis sebagai fungsi utama leukosit, yaitu penelanan, pencernaan dan pembuangan benda-benda asing tertentu khususnya bakteri dan sel-sel rusak.

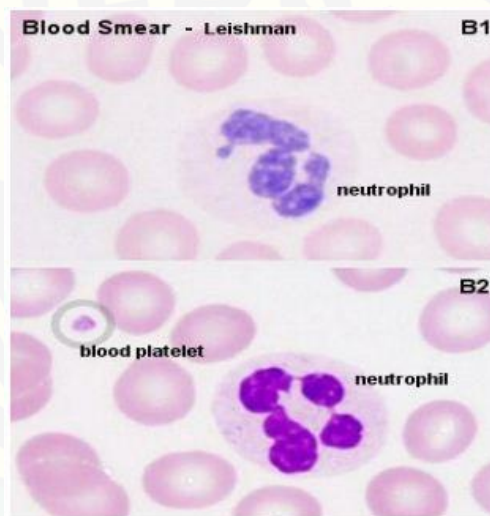
Leukosit yang terlibat hanya dua tipe yang penting. Pertama golongan terbesar adalah neutrofil PMN; sangat motil (penuh daya gerak), mempunyai banyak lisosom untuk mencernakan bakteri dan sel-sel yang sudah tidak berguna lagi dan berumur pendek. Kemudian makrofag (berasal dari monosit) yang utama; kurang motil, mengandung lebih sedikit lisosom dan menghasilkan debris termasuk polimorf mati, bakteri dan fibrin (Lawler dkk.,1992).

## **2.7 Neutrofil PMN**

### **2.7.1 Morfologi Neutrofil**

Pada manusia granulosit dalam sirkulasi terdiri dari tiga macam sel yang secara morfologis dapat dibedakan ikut terlibat dalam banyak reaksi-reaksi imunologik di jaringan. Sel-sel ini termasuk neutrofil, eosinofil, dan basofil, dari ketiga sel ini hanya neutrofil yang terutama berperan dalam fagositik, sedang eosinofil hanya sedikit sekali (Bellanti, 1993). Leukosit neutrofil atau polimorfonuklear (PMN) dalam keadaan normal berjumlah 60-70 persen dari jumlah seluruh eukosit di dalam arah perifer orang dewasa. Neutrofil adalah garis pertahanan pertama tubuh terhadap invasi oleh bakteri, sangat fagositik dan sangat aktif. Tidak seperti makrofag, neutrofil adalah sel terminal dan diferensiasi myeloid dan tidak membelah. Sesudah periode pendek (sekitar 12 jam) PMN masuk ke dalam jaringan, dimana mereka menyelesaikan jangka hidupnya dalam beberapa hari. Secara normal sel-sel ini tidak pernah kembali dari jaringan ke dalam darah (Bellanti, 1993) Granulosit (leukosit polimorfonuklear atau neutrofil) mengandung sedikitnya dua tipe granula : (1) Azurofil atau granula primer dan (2) granula sekunder atau spesifik (Jawetz, 2005). Granula primer (azurofil)

berdiameter 0,4 mikron ( $\mu$ ) yang tampak pada awal dan berciri serupa dengan lisosom jaringan lain (Bellanti, 1993). Granula primer ini mengandung lisozim, enzim hidrolitik lain dan beberapa protein kationik serta defensin, suatu antimikroba. Granula sekunder atau spesifik mengandung laktoferin dan beberapa enzim termasuk kolagenase. Kedua jenis granula ini penting dalam penghancuran benda-benda yang ditelan dan dalam pembunuhan mikroorganisme. Produksi dan pelepasan granulosit diduga dibawah pengendalian faktor seluler humoral (Jawetz dkk, 2005). Gambaran mikroskopikneutrofil dapat dilihat pada gambar :



Gambar 2.1 Neutrofil (Slomianka, 2009)

### 2.7.2 Membran Sel Neutrofil

Membran sel (disebut juga membran plasma), yang menyelubungi sel adalah suatu struktur yang elastik, fleksibel, tipis dengan ketebalan hanya 7,5 sampai 10 nanometer. Membran sel berfungsi sebagai barier semipermeabel yang memungkinkan molekul yang berukuran kecil dapat keluar masuk ke dalam sel. Hasil pengamatan mikroskop elektron terhadap membran sel menunjukkan bahwa membran sel merupakan lipid bilayer (disebut sebagai fluid-mosaic model). Molekul penyusun utama adalah fosfolipid, yang terdiri dari bagian kepala yang polar (hidrofilik) dan dua ekor nonpolar (hidrofobik). Fosfolipid ini tersusun atas bagian nonpolar membentuk daerah hidrofobik yang diapit oleh daerah kepala yang pada bagian dalam dan luar membran. Perkiraan komposisi membran sel adalah: protein 55%, fosfolipid 25%, kolesterol 13%, lipid lain 4%, dan karbohidrat 3% (Guyton dan Hall, 2007).

Protein pada membran sel sebagian besar tersusun atas glikoprotein. Terdapat dua jenis protein membran yaitu : protein integral yang menembus membrane sepenuhnya dan protein perifer yang hanya melekat pada satu sisi atau permukaan membran dan tidak menembus membran sepenuhnya. Protein integral memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah sebagai reseptor. Interaksi reseptor dengan molekul tertentu (ligan) spesifik yang menempel pada reseptor, mengakibatkan perubahan bentuk reseptor. Hal tersebut selanjutnya mengaktifkan bagian dalam protein integral atau menginduksi terjadinya interaksi antara reseptor dan protein yang terdapat dalam sitoplasma, yang berperan sebagai second messenger. Oleh karena itu sinyal dapat diteruskan dari bagian luar reseptor ke dalam sel. Dalam hal ini protein integral yang tersebar di membran sel berfungsi sebagai sarana penyampaian informasi mengenai lingkungan di luar ke dalam sel. Pada neutrofil reseptor ini berupa reseptor Fc ( FcR) dan reseptor C3b (C3bR) yang berinteraksi dengan sebuah antibody yang diangkut darah yaitu IgG dan sebuah komponen komplemen dari plasma darah yaitu C3b, yang melekat pada permukaan bakteri pada proses opsonisasi. Hal ini menyebabkan bakteri bisa menempel pada membran neutrofil (Guyton dan Hall, 2007).

### 2.7.3 Mekanisme Neutrofil dalam Pertahanan Tubuh

Neutrofil merupakan sel pertahanan tubuh non spesifik yang pertama kali mengatasi adanya antigen dengan memfagosit antigen tersebut. Neutrofil dapat menyerang dan menghancurkan bakteri, bahkan di dalam sirkulasi darah. Neutrofil berperan penting pada respon radang akut, dimana terjadi perubahan-perubahan vaskuler dan eksudasi. Beberapa jam setelah dimulai radang akut, terjadi peningkatan jumlah neutrofil dalam darah, kadang-kadang sampai empat hingga lima kali lipat dari jumlah normal. Hal ini disebabkan karena adanya mediator peradangan seperti histamin, bradikinin, serotonin, prostaglandin, beberapa produk sistem komplemen dan produk reaksi pembuluh darah yang memasuki aliran darah kemudian ditranspor di sumsum tulang guna menggerakkan neutrofil-neutrofil ke dalam sirkulasi untuk segera menuju daerah radang (Guyton dan Hall, 2007).

Neutrofil akan bereaksi terhadap inflamasi dengan berakumulasi mendekati sel endotel dinding venula. Proses ini disebut marginasi. Akumulasi dan penempelan neutrofil pada permukaan endotel terjadi karena adanya molekul adhesi yang dilepaskan endotel akibat pengaruh IL-1 yang diproduksi neutrofil. Molekul adhesi tersebut antara lain P-selektin dan intercellular adhesion molecule-1 (ICAM 1) (Firman, 2007). Selain itu adhesi neutrofil pada sel endotel juga memakai protein adhesif spesifik yakni integrin yang terletak pada permukaan neutrofil, dan juga dengan menggunakan protein reseptor spesifik dalam sel endotel tersebut. Integrin ini juga akan menentukan interaksi spesifik neutrofil dengan berbagai sel dan komponen jaringan (Tihnutat, 2009).

Setelah neutrofil mengadakan kemotaksis dan berada di lokasi di mana bakteri tersebut berada, akan terjadi perlekatan antara bakteri dengan neutrofil. Meskipun sel-sel fagosit memiliki kemampuan intrinsik untuk mengikat bakteri secara langsung dan tanpa didahului oleh suatu proses pengenalan yang khas, tetapi perlekatan tersebut akan dipermudah bila bakteri diliputi oleh opsonin yang terdapat dalam serum (Robbins dan Kumar, 1995). Setelah proses opsonisasi, opsonin yang mengikat bakteri mudah melekat pada reseptornya di membran neutrofil (Susanti dan Rahayuningsih, 2003). Hal tersebut dimungkinkan oleh adanya reseptor untuk C3b dan fraksi Fc dari immunoglobulin pada permukaan fagosit (gambar 2.3) (Baratawidjaja, 1996).

Sewaktu mendekati suatu partikel untuk difagositosis, mula-mula neutrofil melekatkan diri pada partikel kemudian menonjolkan pseudopodia ke semua jurusan di sekeliling partikel. Pseudopodia bertemu satu sama lain pada sisi yang berlawanan dan bergabung. Hal ini menciptakan ruangan tertutup yang berisi partikel yang sudah difagositosis. Kemudian ruangan ini berinvaginasi ke dalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari membran sel bagian luar untuk membentuk gelembung fagositik yang mengapung dengan bebas (juga disebut fagosom) di dalam sitoplasma. Segera setelah partikel asing difagositosis, lisosom dan granula sitoplasmik lainnya segera datang untuk bersentuhan dengan gelembung fagositik, dan membrannya bergabung dengan membran pada gelembung, selanjutnya mengeluarkan banyak enzim pencernaan dan bahan

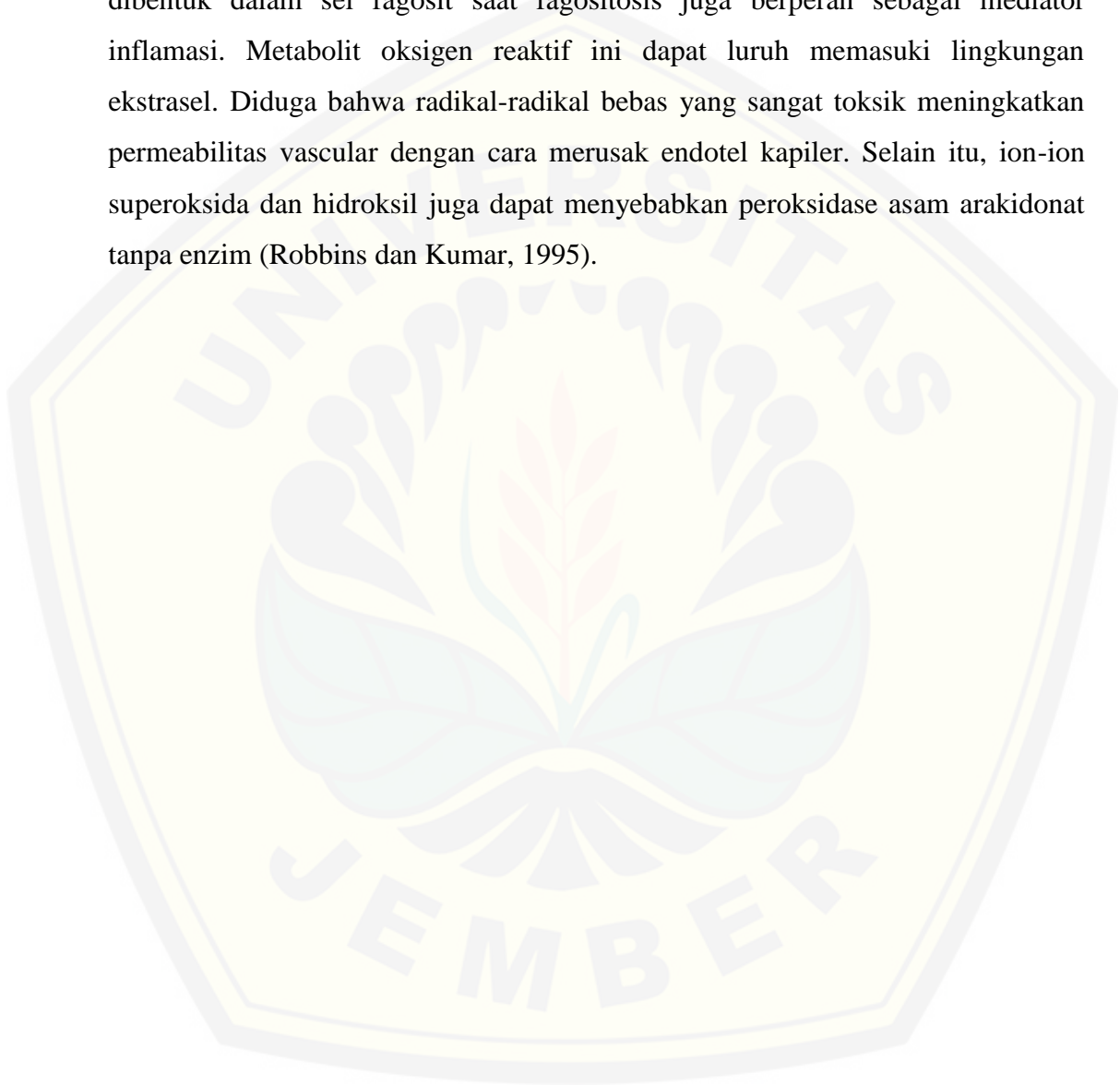
bakterisidal ke dalam gelembung. Jadi, gelembung fagositik sekarang menjadi gelembung pencernaan, dan segera dimulailah proses pencernaan bakteri yang sudah difagositosis (Guyton dan Hall, 2007).

Selain mencerna bakteri yang dicerna di dalam fagosom, neutrofil juga mengandung bahan bakterisidal yang membunuh sebagian besar bakteri, bahkan bila enzim lisosomal gagal mencerna bakteri tersebut. Banyak efek pembunuhan merupakan hasil dari beberapa bahan pengoksidasi kuat yang dibentuk oleh enzim dalam membrane fagosom, atau oleh organel khusus yang disebut peroksisom. Bahan pengoksidasi ini ialah sejumlah besar superoksida ( $O_2^-$ ) hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan ion-ion hidroksil ( $OH^-$ ), semuanya bersifat mematikan bagi sebagian besar bakteri, bahkan bila bahan pengoksidasi itu jumlahnya sedikit. Selain itu, salah satu enzim lisosom, yaitu mieloperoksidase, mengatalisis reaksi antara  $H_2O_2$  dan ion klorida untuk membentuk hipoklorit, yang secara luas bersifat bakterisid. Ketika proses radang akut dapat ditekan, proses ini akan berakhir dengan terjadinya apoptosis dari sel neutrofil yang masih hidup, yaitu suatu proses yang merupakan regulasi dari bunuh diri sel. Selanjutnya neutrofil yang melakukan apoptosis akan terisolasi dari daerah infeksi. Berbeda dengan kematian sel neutrofil akibat produk bakteri (kematian degeneratif atau nekrosis), apoptosis memiliki karakteristik, seperti sel menyusut, mengendap, kondensasi kromatin, dan kondensasi intranukleosom DNA (Firman, 2007).

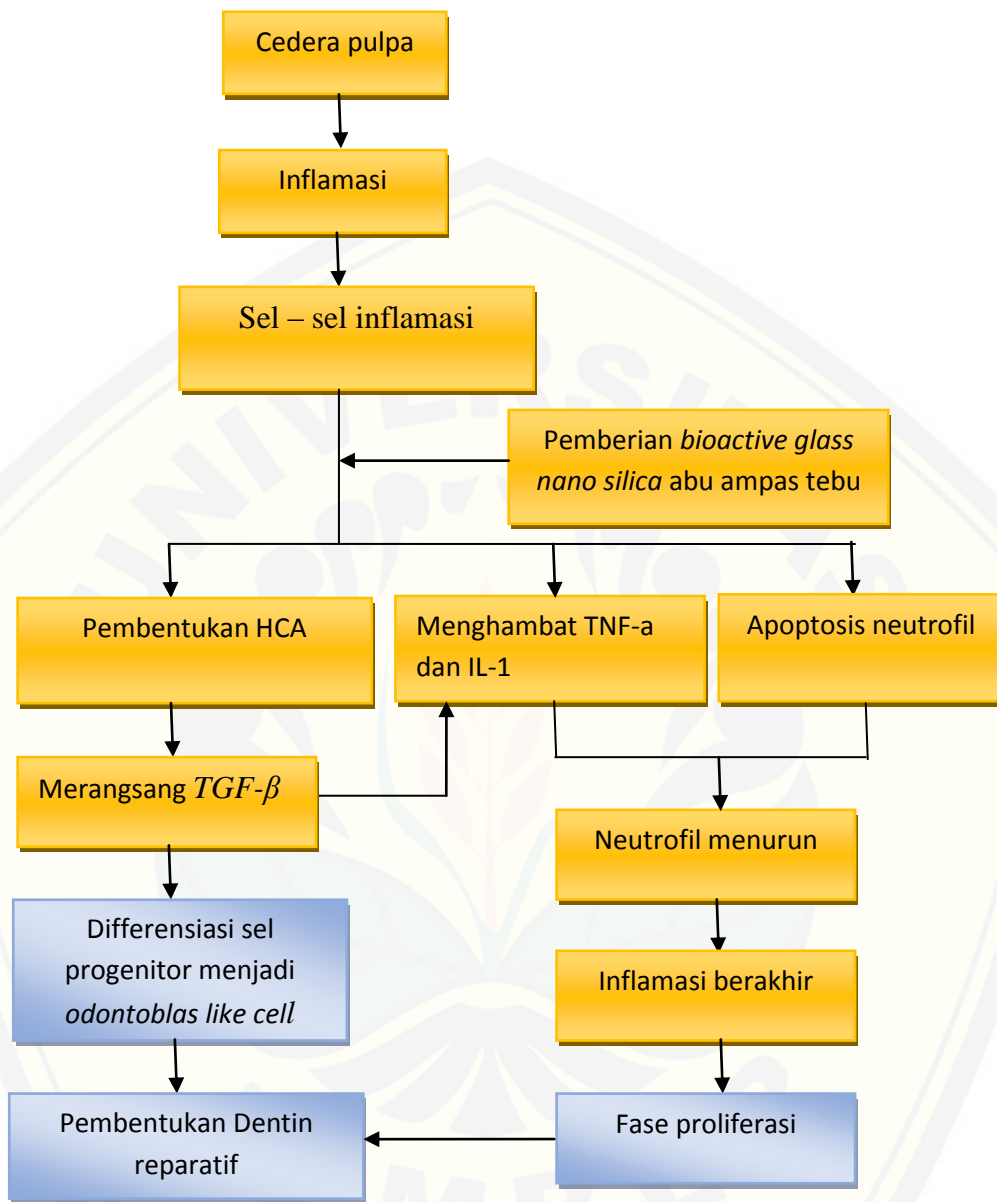
Apoptosis akan melimitasi resiko kerusakan jaringan dengan melepaskan oksigen reaktif dan meningkatkan perbaikan terhadap repon infeksi. Selain itu campuran jaringan nekrotik, neutrofil mati, makrofag mati, dan cairan jaringan yang terdapat dalam pus pada daerah yang meradang secara bertahap akan mengalami autolysis dalam waktu beberapa hari, dan kemudian produk akhirnya akan diabsorpsi ke dalam jaringan sekitar dan cairan limfe sehingga sebagian besar tanda kerusakan akan hilang (Firman, 2007). Granula lisosom yang terdapat dalam neutrofil juga mengandung mediator inflamasi. Mediator ini dilepaskan setelah kematian sel oleh karena peluruhan selama pembentukan vakuola fagosit atau oleh fagositosis yang terjalang karena ukurannya besar dan permukaan yang tidak dapat dicerna. Perusakan neutrofil ini juga menyebabkan pelepasan enzim



proteolitik, pepsin, dan cathepsin, dengan akibat lisis jaringan (Grossman, 1995). Kalikrein yang dilepaskan dari lisosom menyebabkan pembentukan bradikinin. Neutrofil juga merupakan sumber fosfolipase yang diperlukan untuk sintesis asam arakidonat (Robbins dan Kumar, 1995). Selain itu metabolit oksigen reaktif yang dibentuk dalam sel fagosit saat fagositosis juga berperan sebagai mediator inflamasi. Metabolit oksigen reaktif ini dapat luruh memasuki lingkungan ekstrasel. Diduga bahwa radikal-radikal bebas yang sangat toksik meningkatkan permeabilitas vascular dengan cara merusak endotel kapiler. Selain itu, ion-ion superoksida dan hidroksil juga dapat menyebabkan peroksidase asam arakidonat tanpa enzim (Robbins dan Kumar, 1995).



2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 kerangka konsep

Keterangan :

- = Diteliti
- = Tidak diteliti

## 2.9 Hipotesis

*Bioactive glass nano silica* abu ampas tebu dapat menurunkan jumlah sel neutrofil setelah diaplikasikan pada pulpa gigi tikus sebagai bahan regenerasi dentin.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratories dengan rancangan penelitian *the post test with control group design*, yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan lalu hasilnya dibandingkan dengan kontrol.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biosains Politeknik Jember, Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya pada bulan november – desember 2017.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bahan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu serta waktu dekapitasinya yaitu hari ke-3, dan ke-7.

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel neutrofil pada pulpa gigi tikus wistar jantan setelah dipreparasi dan diberi perlakuan.

#### 3.3.3 Variable Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini di antaranya adalah:

- a. Jenis kelamin hewan coba
- b. Berat badan hewan coba
- c. Prosedur pembuatan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu
- d. Gigi molar tikus wistar jantan
- e. Cara preparasi gigi molar tikus wistar

- f. Teknik pembuatan sediaan
- g. Waktu pengamatan
- h. Cara penghitungan sel neutrofil

### 3.4 Definisi Operasional

#### 3.4.1 Abu Ampas Tebu

Abu ampas tebu merupakan limbah dari ampas tebu yang mengandung silika yang kemudian dibakar dan akan menjadi abu yang berwarna coklat gelap.



Gambar 3.1 Abu ampas tebu (Catur,2016)

#### 3.4.2 *Bioactive Glass Nano Silica* dari Abu Ampas Tebu.

*Bioactive glass nano silica* adalah bahan *bioactive glass* yang berasal dari silika abu ampas tebu yang diproses menggunakan metode sol-gel untuk menghasilkan partikel yang berukuran nano meter setelah melalui proses furnace dengan suhu di atas  $900^{\circ}\text{C}$  kemudian diayak dengan ayakan 200 mesh dan hasil akhirnya berupa powder.

#### 3.4.3 Dekapitasi

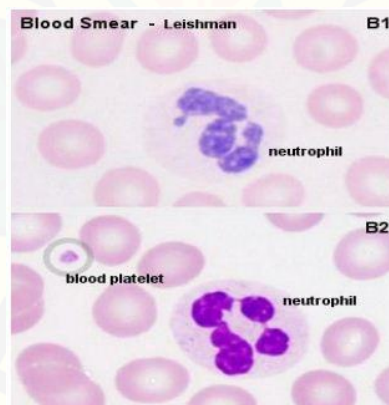
Dekapitasi merupakan suatu tindakan untuk memisahkan rahang hewan coba dari kepala hewan coba yang dilakukan pada hari ke-3, dan ke-7. Salah satu teknik yang digunakan yaitu dengan cara dislokasi servikal pada leher tikus hewan coba kemudian leher tersebut dipotong menggunakan scalpel. Setelah leher terpotong kemudian dilakukan pemotongan jaringan pada gigi molar satu kiri rahang atas.



Gambar 3.2 dislokasi servikal pada leher hewan coba (koleksi pribadi, 2018)

#### 3.4.4 Neutrofil

Neutrofil adalah salah satu sel yang terlibat saat terjadi peradangan, memiliki bentuk oval, dengan inti bentuk huruf S, bersegmen (memiliki lobus), seperti kuda (horseshoe). Inti umumnya terdiri atas 3 sampai 5 lobus berbentuk lonjong yang tidak teratur, yang saling dihubungkan oleh benang-benang kromatin yang halus. Sitoplasma tidak berwarna penuh dengan granula-granula yang sangat kecil dan berwarna coklat kemerahan sampai merah muda.



Gambar 3.3 Neutrofil (Slomianka, 2009)

### 3.5 Sampel Penelitian

#### 3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan tikus sebagai hewan cobanya. Hal ini disebabkan karena selain tikus mudah penanganannya dan relatif ekonomis dibandingkan dengan hewan primata, juga yang penting ialah reaksi pulpa gigi tikus terhadap suatu bahan pada prinsipnya mirip dengan reaksi yang terjadi pada

pulpa gigi manusia. Sementara pemilihan gigi molar pertama pada rahang atas tikus 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.

Binatang coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan. Pemilihan tikus jantan dalam penelitian ini untuk menghindari adanya kemungkinan variasi hormonal yang terjadi pada tikus wistar jenis betina (Sabir., 2005). Penggunaan tikus jantan dalam penelitian ini karena memiliki hormone estrogen dalam jumlah sedikit, selain itu adanya hormon progesteron pada tikus betina juga mempengaruhi reseptor spesifik yang berperan pada permeabilitas vaskuler dan eksudasi, memicu perubahan mikrosirkulasi dan peningkatan pembentukan prostaglandin E2 pada gingiva manusia. Prostaglandin E2 merupakan mediator potensial dalam respons peradangan (Nuarita, 2012).

### 3.5.2 Pengelompokan Sampel Penelitian

Jumlah sampel sebanyak 16 ekor tikus wistar jantan dengan kriteria jenis kelamin jantan *strain* wistar dengan berat badan 200-300 gram, keadaan umum baik, dan dilakukan adaptasi 1 minggu, dikelompokkan menjadi 2 kelompok masing- masing kelompok terdiri dari 8 ekor. Sedangkan masing-masing perlakuan dibedakan hari ke 3 dan 7. Jumlah kelompok sampel dalam penelitian ini adalah kelompok, dengan penjelasan sebagai berikut:

a. Kelompok 1 (K0) merupakan kelompok kontrol. Terdiri dari 8 ekor tikus wistar jantan. Kemudian kelompok satu dibagi menjadi 2 sub kelompok dengan masing-masing sub kelompok terdiri dari 4 ekor tikus :

- 1) Sub kelompok 1 hari ke 3, 4 ekor tikus wistar akan dibur pada gigi M1 kiri rahang atas dan hanya ditumpat caviton kemudian ditunggu respon radangnya selama 3 hari sebelum dilakukan dekapitasi. Pada hari ke-3 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan didekapitasi dengan cara inhalasi menggunakan kloroform , dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan region molar rahang atas kiri tikus, lalu

direndam dalam NBF 10%, kemudian dilakukan pemotongan secara buko-lingual untuk dibuat sediaan, kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan HE.

2) Sub kelompok 1 hari ke-7

4 ekor tikus wistar akan dibur pada gigi M1 kiri rahang atas dan hanya ditumpat caviton kemudian selama ditunggu respon radangnya selama 7 hari sebelum dilakukan dekapitasi. Pada hari ke-7 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan didekapitasi dengan cara inhalasi menggunakan kloroform, dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan region molar rahang atas kiri tikus, lalu direndam dalam NBF 10%, kemudian dilakukan pemotongan secara buko-lingual untuk dibuat sediaan, kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan HE.

b. Kelompok kedua (K1) merupakan kelompok perlakuan. Terdiri dari 8 ekor tikus wistar jantan, Kemudian kelompok kedua dibagi menjadi 2 sub kelompok dengan masing-masing subkelompok terdiri dari 4 ekor tikus :

1) Sub kelompok 3 hari ke-3

Diberi perlakuan selama 3 hari menggunakan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu sebelum dilakukan dekapitasi. Pada hari ke-3 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan didekapitasi dengan cara inhalasi menggunakan kloroform, dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan region molar rahang atas kiri tikus, lalu direndam dalam NBF 10%, kemudian dilakukan pemotongan secara buko-lingual untuk dibuat sediaan, kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan HE.

2) Sub kelompok 3 hari ke-7

Diberi perlakuan selama 7 hari menggunakan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu sebelum dilakukan dekapitasi. Pada hari ke-7 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan didekapitasi dengan cara inhalasi menggunakan kloroform, dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan region molar rahang bawah kiri tikus, lalu direndam dalam NBF 10%, kemudian dilakukan pemotongan secara buko-



lingual untuk dibuat sediaan, kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan HE.

### 3.5.3 Jumlah Sampel

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

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

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

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

$$n = 1,96^2$$

$$n = 3,84$$

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

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

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

$$n = 1,96^2$$

$$n = 3,84$$

$$n = 4$$

Keterangan :

n = Besar sampel minimum

$\sigma$  = Standart deviasi sampel

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

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

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus di atas, sampel yang dibutuhkan untuk mengetahui pengaruh *bioactive glass nano silica* adalah sebanyak 4 sampel.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

- a. Pengaduk Magnet (*Wisetir, Daihan Scientific*)
- b. Ayakan 200 mesh (MBS, Indonesia)
- c. Oven (Memmert, UL 40, *Germany*)
- d. *Muffle Furnace* (*Haraeus, Germany*)
- e. Timbangan
- f. Sendok pengaduk
- g. Wadah plastik
- h. Mortar dan alu
- i. pH Meter
- j. *Beaker* 200 ml, 250 ml, 400 ml, 500 ml, 1000 ml
- k. Tabung *Erlenmeyer* 250 ml, 500 ml, 1000 ml
- l. *Petridisk*
- m. Gelas ukur 100 ml
- n. Cetakan kuningan
- o. Mikropipet
- p. Sendok aluminium kecil
- q. Pencepit *Stainless Steel*
- r. Corong kaca
- s. Object glass dan deck glass
- t. Mikroskop cahaya
- u. *Scalpel dan blade*
- v. Alat dasar (kaca mulut, ekskavator, pinset, sonde)
- w. Mikrotom
- x. Bur fissure silindris
- y. Diamond round bur

- z. *Plastis filling instrument*
- aa. *Cotton pelet*
- bb. Sonde
- cc. Spatula semen
- dd. Ekskavator
- ee. *Plastis filling instrument*
- ff. Gunting
- gg. Pinset
- hh. Sarung tangan
- ii. Masker
- jj. *Stopper sement*
- kk. Mikrotom

### 3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Abu Ampas Tebu (*baggase*)
- b. HCl 0,1 M
- c. NaOH 2 N
- d. *Aquades*
- e. Etanol 96%
- f. HNO<sub>3</sub>
- g. P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- h. Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O
- i. *Alumuniumfoil*
- j. Kertas saring *Whatman* no. 42
- k. Meyer- HE
- l. Xylasin
- m. NaOCl 2,5 %
- n. NBF 10 %
- o. Alkohol 70 % , 80 % , 95% , 100 %
- p. Xylol
- q. *Meyeregg albumin*

- r. *Eosin*
- s. *Entellan*
- t. *Ketamin*
- u. *Kloroform*
- v. *bioactive glass nanosilica* abu ampas tebu,
- w. *bioactive glass* sintetis (bioglass 45S5)
- x. tumpatan sementara (Caviton, Jepang)
- y. larutan asam formiat 10 %

### 3.7 Cara Kerja

#### 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)

##### d. Pembuatan *bioactive glass nano silica* (Adams *et al.*, 2013)

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



Gambar 3.4 Pembakaran ampas tebu menjadi abu (koleksi pribadi, 2018)

2. Abu ampas tebu dibakar dalam alat *furnace* bersuhu  $900^{\circ}\text{C}$  selama 2 hari hingga berubah warna menjadi kecoklatan



Gambar 3.5 Pembakaran abu dalam alat *furnace* bersuhu  $900^{\circ}\text{C}$  (koleksi pribadi, 2018)

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



Gambar 3.6 mengayak abu ampas tebu dengan ayakan mesh (koleksi pribadi, 2018)

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

5. Kemudian larutan di atas, disaring menggunakan kertas saring whatman. Selanjutnya dibilas dengan akuades hingga pH normal (7). Pengecekan pH dilakukan menggunakan alat pH meter;



Gambar 3.7 menyaring abu ampas tebu dengan kertas saring whatman (koleksi pribadi, 2018)

6. Mengeringkan abu ampas tebu di atas dalam oven bersuhu  $110^{\circ}$  C selama 2 jam, kemudian ditimbang
7. Abu yang akan digunakan pada tahap selanjutnya adalah 10 gram. Abu tersebut dimasukkan ke dalam gelas erlenmayer, kemudian dicampur dengan larutan 60 ml NaOH 2 N, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet. Suhu alat pengaduk magnet diaktifkan dan diatur sampai larutan mendidih selama 60 menit;
8. Mendinginkan campuran di atas hingga mencapai suhu kamar, kemudian disaring dengan kertas saring whatman. Hasil dari penyaringan ini adalah filtrat berupa natrium silika;



Gambar 3.8 Hasil penyaringan berupa natrium silika basah(koleksi pribadi, 2018)

9. Mengeringkan natrium silika dengan oven bersuhu  $110^{\circ}$  selama 2 jam (Kristianingrum dkk., 2011);
10. Natriumsilika yang akan digunakan pada tahap selanjutnya adalah 5 gram. Natrium silika tersebut dimasukkan ke dalam gelas erlenmayer, kemudian

- dicampur dengan 15 ml akuades, dan diaduk secara otomatis menggunakan alat pengaduk magnet;
11. Kemudian 2,5 ml etanol 96% ditambahkan pada campuran di atas, dan tetap diaduk sampai larutan terlihat jernih;
  12. Kemudian  $\text{HNO}_3$  2 M ditambahkan sampai pH larutan menjadi normal (7). Pengecekan pH dilakukan menggunakan alat pH meter. Campuran di atas tetap diaduk secara otomatis selama 1 jam;
  13. Setelah 1 jam pengadukan, 0,5 gram  $\text{P}_2\text{O}_5$  (*phosphorus pentoxide*) ditambahkan dan tetap diaduk selama 45 menit;
  14. Selanjutnya ditambahkan 4,1 gram  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (*calcium nitrate tetrahydrat*) dan tetap diaduk selama 45 menit;
  15. Terakhir campuran tersebut diaduk selama 1 jam sampai konsistensinya seperti gel, kemudian didiamkan selama 5 hari dalam temperatur ruang;
  16. Kemudian campuran tersebut dipindahkan ke cawan porselen dan dikeringkan dalam oven bersuhu  $60^\circ\text{C}$  selama 72 jam.
  17. Sebagai pengeringan tahap akhir dilakukan menggunakan alat furnace dengan suhu  $600^\circ\text{C}$  selama 5 jam, dilanjutkan dengan suhu  $1000^\circ\text{C}$  selama 2 jam.



Gambar 3.9 pengeringan natrium silikat tahap akhir dengan alat *furnace* (koleksi pribadi, 2018)

18. Hasil akhir proses ini disebut serbuk *bioactive glass nano silica*



Gambar 3.10 hasil akhir powder bioactive glass nano silica abu ampas tebu (koleksi pribadi, 2018)

#### f. Adaptasi Tikus

Tikus Wistar sebanyak 36 ekor dengan berat 200-250 gram setiapekornya yang diadaptasikan selama satu minggu sebelum mulai diberikan perlakuan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Unej.

#### 3.7.2 Tahap perlakuan hewan coba tikus wistar jantan (Kurnia dkk., 2015)

##### a. Tikus difiksasi dengan posisi terlentang pada papan fiksasi

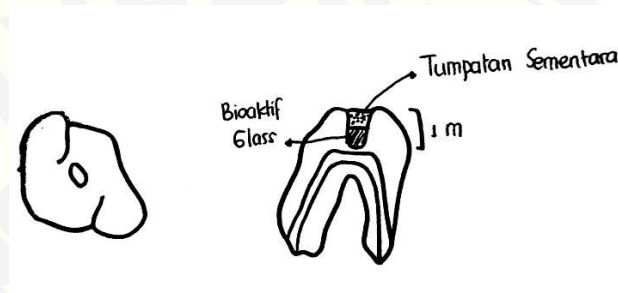


Gambar 3.11 fiksasi tikus dengan posisi terlentang (koleksi pribadi, 2018)

- b. Hewan coba diberikan obat anastesi secara intra muscular berupa ketamin dicampur *xylazine* sebanyak 0,2 ml/200 gram berat badan untuk memberikan efek tenang pada hewan coba sebelum dilakukan preparasi pada gigi tikus tersebut.
- c. Meretraksi pipi tikus dengan menggunakan kaca mulut No.3. oklusal gigi M1 atas diasespsis dengan menggunakan *cotton pellet* steril yang telah dicelupkan ke dalam *chlorhexidin*.



- d. Gigi molar satu rahang atas dipreparasi kavitas kelas I pada permukaan oklusal menggunakan *diamond round bur* no.10 (Edenta, Switzerland) dengan kedalaman  $\pm 1$  mm kemudian dilanjutkan dengan membuat perforasi atap pulpa menggunakan ujung sonde.
- e. Kavitas diirigasi dengan aquadest steril lalu dikeringkan dengan cotton pellet.
- f. Pada dasar kavitas gigi M1 kiri tersebut dilakukan control dan perlakuan sesuai dengan kelompok masing – masing. sesuai dengan petunjuk penggunaan pabrik.

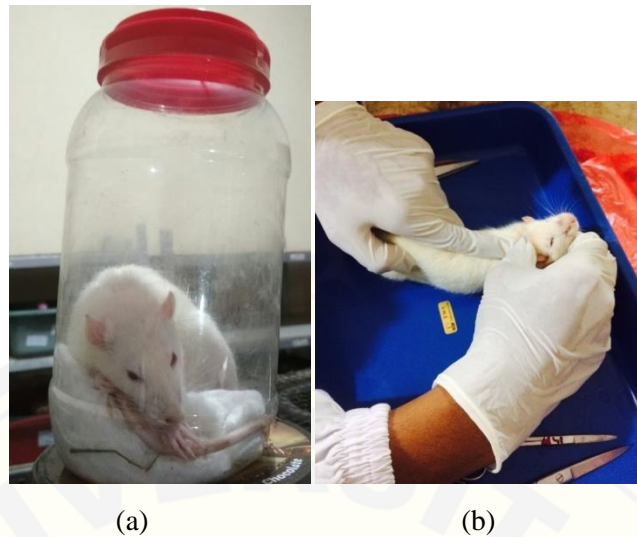


Gambar 3.12 bentuk preparasi pada gigi M1 hewan coba(koleksi pribadi)



Gambar 3.13 preparasi gigi molar satu rahang atas (koleksi pribadi)

- g. Tikus ditunggu hingga sadar, lalu dikembalikan ke dalam kandang. Tikus diberi makan pelet (*turbo*) dan minum sehari 2 kali menggunakan dot yang dipasang pada kandang.
- h. Pada hari ke-3 dan ke-7, tikus didekapitasi sesuai dengan pembagian kelompoknya. Dekapitasi pada tikus menggunakan overdosis *chloroform* secara inhalasi dandilanjutkan dengan dislokasi servikal.



Gambar 3.14 a. membius hewan coba dengan kloroform secara inhalasi  
b. dislokasi servikal pada leher hewan coba (koleksi pribadi, 2018)

### 3.7.3 Pengambilan sampel dan pembuatan preparat histologi (Kurnia dkk., 2015)

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



Gambar 3.15 pemotongan jaringan rahang atas hewan coba (koleksi pribadi, 2018)

- b. Memisahkan jaringan lunak dengan jaringan keras menggunakan gunting bedah dan pisau bedah.



Gambar 3.16 pemisahan jaringan lunak dengan jaringan keras (koleksi pribadi,2018)

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



Gambar 3.17 fiksasi jaringan dengan larutan buffer formalin 10% (koleksi pribadi,2018)

- d. Setelah 7 hari, mengecek jaringan pada bagian permukaan mahkota gigi 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 15menit, 80 % selama 1 jam, 95 % selama 2 jam, dan 100 % selama 3 jam.
- g. *Kemudian, Clearing* menggunakan bahan *xylol* sebanyak 3 kali pada3 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.





Gambar 3.20 Deparafinisasi preparat kedalam larutan *xylol* dengan wadah yang berbeda (koleksi pribadi, 2018)

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



Gambar 3.21 Rehidrasi alkohol 100 % dan 95 % (koleksi pribadi, 2018)

- 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,



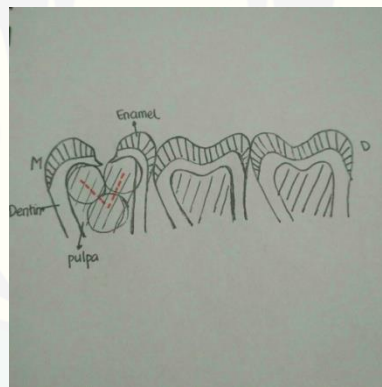
Gambar 3.20 membilas preparat dengan air mengalir (koleksi pribadi, 2018)

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

- 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*.

#### 3.7.5 Pengamatan sediaan preparat histologi (Kurnia, 2015)

- a. Sel inflamasi yaitu neutrofil, diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400×x pada area di bawah preparasi kavitas.
- b. Penghitungan sel neutrofil dilakukan pada tiga lapang pandang yang berbeda yaitu pada bagian mesial, apikal bagian tengah dan distal dengan pola membentuk huruf V.
- c. kemudian dilakukan tabulasi jumlah sel neutrofil dan diambil rata-ratanya

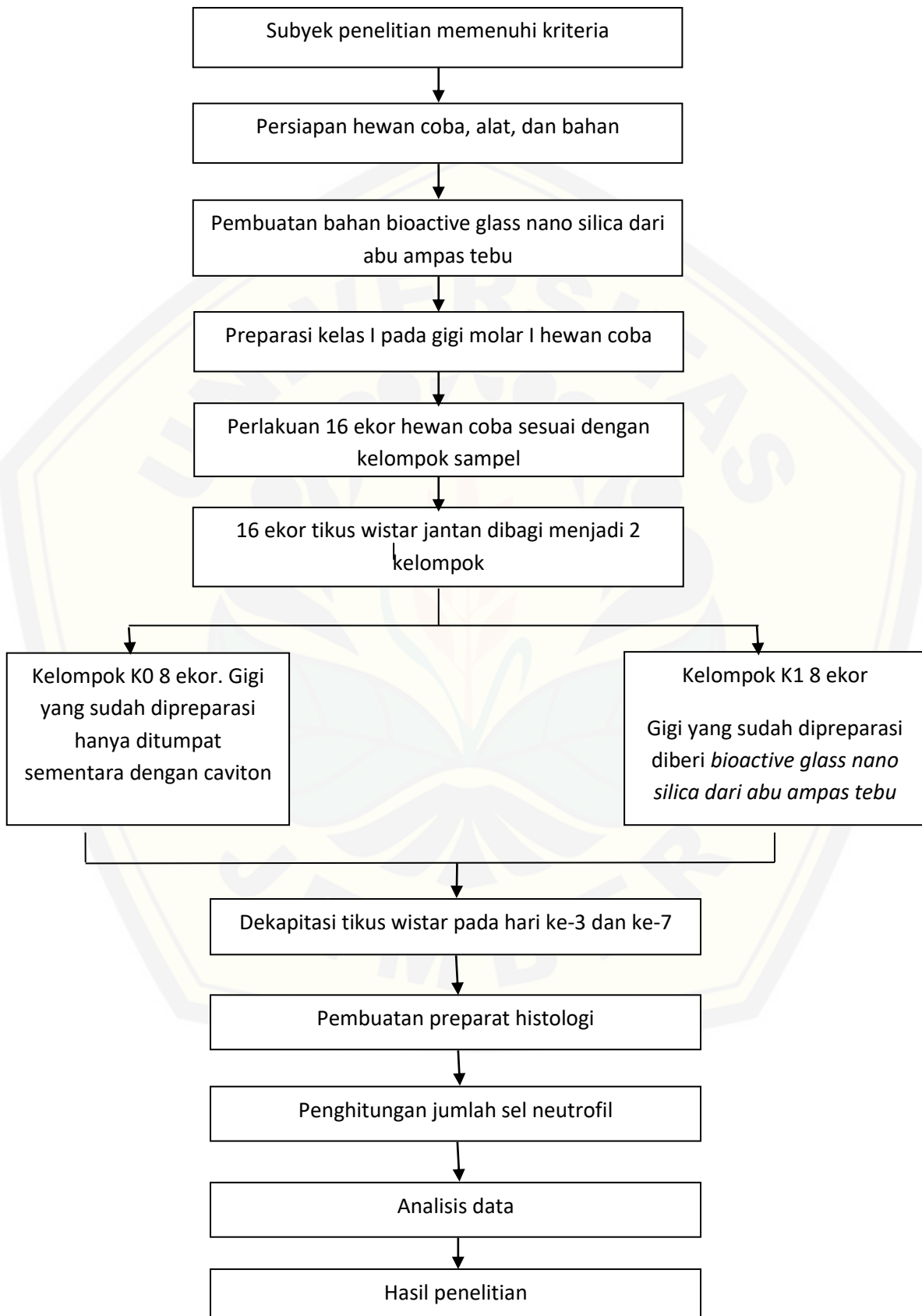


Gambar 3.22 sketsa pengamatan dengan pola huruf V (koleksi pribadi, 2018)

### 3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *software* pengolah data statistik yaitu program SPSS. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Kemudian data dilakukan uji parametrik dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Different (LSD)* (Narimawati, 2008).

### 3.9 Alur penelitian



## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pemberian *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu pada gigi tikus wistar jantan yang mengalami inflamasi memiliki pengaruh pada penurunan jumlah neutrofil.

### 5.2 Saran

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

1. Adanya kesulitan saat melakukan preparasi kavitas pada gigi tikus wistar jantan yang ukurannya sangat kecil sehingga dipertimbangkan untuk menggunakan hewan coba yang lain seperti tikus *sparague dawley*, hamster, atau kelinci untuk penelitian selanjutnya.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian *bioactive glass nano silica* abu ampas tebu terhadap jumlah sel fibroblast dan kolagen pada jaringan pulpa gigi hewan coba yang lain dengan menggunakan metode penghitungan yang lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan bahan *powder bioactive glass nanosilica* dengan bahan yang telah umum digunakan sebagai bahan pemicu pembentukan dentin reparatif.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Adams, L. A., R. E. Enobong, O. S. Rafiu, O. Aderemi, 2013. Sol – Gel Synthesis of SiO<sub>2</sub> – CaO – Na<sub>2</sub>O – P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Bioactive Glass Ceramic from Sodium Metasilicate. *New Journal of Glass and Ceramics*. 3(11 – 15).
- Baratawidjaja, K.G. 1996. *Imunologi Dasar*. Edisi ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bellanti, J. A. 1985. *Imunologi III*. Terjemahan oleh A. Samik Wahab. 1993. Jogjakarta: Gadjah Mada University press.
- Dorland. 2002. “Dorland’s Illustrated Medical Dictionary”. Terjemahan Tim Penerjemah EGC. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Enggardipta, R. A., T. Haniastut., J. Handajani., 2016. Efek Eugenol Terhadap Jumlah Sel Inflamasi Pada Pulpa Gigi Molar Tikus *Sparague Dawley*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*; 2 : 5-6.
- Farooq I., Z. Imran., U. Farooq., A. Leghari., H. Ali., 2012. Bioactive Glass: A Material for The Future, *Word Journal of Dentistry*, 3(2) : 199-201.
- Firman, B. 2007. “Perbandingan Pengaruh Sevofluran dan Isofluran Terhadap Jumlah Neutrofil Polimorfonuklear Darah Tepi”. Tesis. Semarang: Program PascaSarjana Magister Ilmu Biomedik dan Pendidikan Dokter Spesialis IAnestesiologi Universitas Diponegoro.
- Greenspan, David C., Sean Lee, Marlo Tan Walpole. 2003. Anti-inflammatory Bioactive Glass Particulates. *Usbiomaterials*
- Grossman IL, Oliet S, Rio CED. 1995. *Ilmu Endodontik dalam Praktik*. Ed.11. Jakarta : EGC. Hal: 128
- Guyton, A. C., dan Hall, J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Cetakan I. Terjemahan Irawan S, K. A. Tragedi, dan A. Santos. 1997. Jakarta :EGC. Hal: 452-457
- Hanafi, S. A. dan Nandang A. R. 2010. Studi Pengaruh Bentuk Silika dari Ampas Tebu terhadap Kekuatan Produk Keramik. *Jurnal Kimia Indonesia*; 5(35 – 38).
- Hargreaves, K.M., dan Goodis, H.E., 2002, *Seltzer and Bender’s: Dental Pulp*, Quintessence Publishing Co. Inc, Chicago, hlm. 63-79. Hipólito V.D., Rodrigues, F.P., Piveta, F.B., Azevedo, L.D.C.,

- Hidayat, W. 2017. Analisis pembentukan *hydroxycarbonate apatit* pada bubuk glass ionomer tipe II dengan penambahan *bioactive glass nano silica abu ampas* tebu yang direndam cairan tubuh buatan. Skripsi. Jember: kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Hoppe, A., N.S. Guldal., A.R. Boccaccini. 2011. A review of the biological response to ionic dissolution product from bioactive glasses and glass ceramic. *journal homepage: [www.elsevier.com/locate/biomaterials](http://www.elsevier.com/locate/biomaterials)*. 32(2760-2766).
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: EGC. Hal:92
- Jones, Julian R.2013. Department of Materials, Imperial College London, South Kensington Campus, London. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids.
- Kinasih, C. P. 2016. Pemanfaatan *bioactive glass nano silica* dari abu ampas tebu sebagai *remineralizing agent* untuk meminimalkan kebocoran tepi semen ionomer kaca. Skripsi. Jember: Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Kristianingrum, S., D. S. Endang., F. Annisa. 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. Agung., Ardhiyanto., H. Bowo., Suhartini.,2015. Potensi Ekstrak The Hijau (*Camelia sinesis*) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. *e-jurnal Pustaka Kesehatan*; 3(1).
- Kusumastuti, E., J. Handajani., H. Susilowati., 2014. Ekspresi COX-2 dan Jumlah Neutrofil Fase Inflamasi pada Proses Penembuhan Luka Setelah pemberian Sistemik Ekstrak Etanolik Rosela (*Hibiscus Sabdariffa*) (Studi in Vivo Pada Tikus Wistar). *Maj Ked Gi*. 21(1): 13-19.
- Lawler, W. Ali Ahmed. William J. Hume. 1992. “Essensial Pathology for Dental Student”. Terjemahan Lilian Yuwono. *Buku Pintar Patologi untuk Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC.
- Mabrouk, M., Selim., Hanan B., El – Gohary M. I. 2012. Effect of Incorporation of Nano Bioactive Silica Into Commercial Glass Ionomer Cements (GIC). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*;10;113 – 119.
- Narimawati,U. 2008. *Metodologi Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif, Teori dan Aplikasi*. Bandung: Agung Media.

- Nuarita, R., D. Praharani., B. Kusumawardani. 2012. Pengaruh penyakit periodontal selama masa kehamilan terhadap jumlah total leukosit dan hitung jenis leukosit. *Stomatognatic (J.K.G Unej)*. 9 (3); 125-130.
- Octiara, E. 2015. Dentin Reparatif dan Growth Factor yang Berperan dalam Dentinogenesis Reparatif. *Dentika Dental Journal*; 18(3):294-299
- Price & Wilson. 1995. "Patophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes". Terjemahan Peter Anugerah. Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit. Jakarta: EGC.
- Rahaman, M. N., E. D. Delbert., B. Sony., F. Qiang., B. J. Steven., F. B. Lynda., P. T. Antoni. 2011. Review : Bioactive Glass in Tissue Engineering. *Acta Materialia*;7: 2355 – 2373.
- Robbins, Stanley L & Vinay Kumar. 1995. "Basic Pathology Part 1". Fourth Edition. Terjemahan Jonathan Oswari. *Buku Ajar Patologi I*. Edisi 4. Jakarta: EGC.
- Rutherford B, Fitzgerald M (1995) A new biological approach to vital pulp therapy. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 6, 218-29.
- Tihnulat, A.N. 2009. "Efek Bawang Putih (*Allium sativatum*) dan Cabe Jawa (*Piperretrofractum* Vahl.) Terhadap Jumlah Neutrofil Pada Tikus Yang Diberi Suplemen Kuning Telur". Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Vijayanathan V, Thomas T, Thomas TJ (2002) DNA nanoparticles and development of DNA delivery vehicles for gene therapy. *Biochemistry* 41: 14085-14094.
- Widjajanto, E. 2005. Peranan Makrofag pada Proliferasi, Differensiasi, dan Apoptosis pada Proses Hematoposis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXI, No.1*
- Yusuf, M.S. 2014. Efektivitas penggunaan jintan hitam (*Nigella sativa*) dalam proses percepatan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi. Skripsi. Makassar: Bagian Ilmu Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin.

## LAMPIRAN

## A. HASIL ANALISIS PERHITUNGAN JUMLAH NEUTROFIL

Kelompok	Hari	Tikus	Lapang pandang												Rata LP
			P1				P2				P3				
			LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	
Powder BAG	3	1	16	13	16	15	17	15	16	16	15	14	10	13	14.6667
		2	16	18	17	17	17	19	15	17	13	17	18	16	16.6667
		3	15	18	15	16	19	16	19	18	15	19	17	17	17
		4	18	17	19	18	18	20	19	19	19	18	17	18	18.3333
	7	1	18	18	18	18	14	15	16	15	18	20	19	19	17.3333
		2	14	18	19	17	15	16	14	15	15	16	17	16	16
		3	19	20	18	19	17	18	19	18	16	16	19	17	18
		4	20	18	19	19	19	21	20	20	18	18	18	18	19

Kelompok	Hari	Tikus	Lapang pandang												Rata LP
			P1				P2				P3				
			LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	LP1	LP2	LP3	Rata	
Caviton	3	1	35	38	38	37	39	40	41	40	38	39	40	39	38.6667
		2	36	40	38	38	36	37	35	36	35	34	36	35	36.3333
		3	34	33	32	33	32	36	34	34	35	37	39	37	34.6667
		4	32	31	36	33	35	33	37	35	33	37	38	36	34.6667
	7	1	29	32	29	30	33	32	34	33	33	31	29	31	31.3333
		2	35	31	33	33	35	32	38	35	39	35	37	37	35
		3	28	30	32	30	32	34	36	34	36	31	32	33	32.3333
		4	32	33	28	31	32	31	27	30	38	34	33	35	32

## B. ANALISIS DATA

### B.1. Hasil Uji Normalitas Menggunakan Saphiro-Wilk

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	kelompok_perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
sel_neutrofil	caviton hari ke-3	.303	4	.	.791	4	.086
	caviton hari ke-7	.192	4	.	.971	4	.850
	powder bioactive glass hari ke-3	.329	4	.	.895	4	.406
	powder bioactive glass hari ke-7	.250	4	.	.945	4	.683

a. Lilliefors Significance Correction

### B.2. Hasil Uji Homogenitas Menggunakan *Levene Test*

#### Test of Homogeneity of Variances

sel\_neutrofil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.896	3	12	.472

### B.3. Hasil Uji Statistik Parametrik menggunakan One Way ANOVA

#### ANOVA

sel\_neutrofil

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1339.688	3	446.563	204.143	.000
Within Groups	26.250	12	2.188		
Total	1365.938	15			

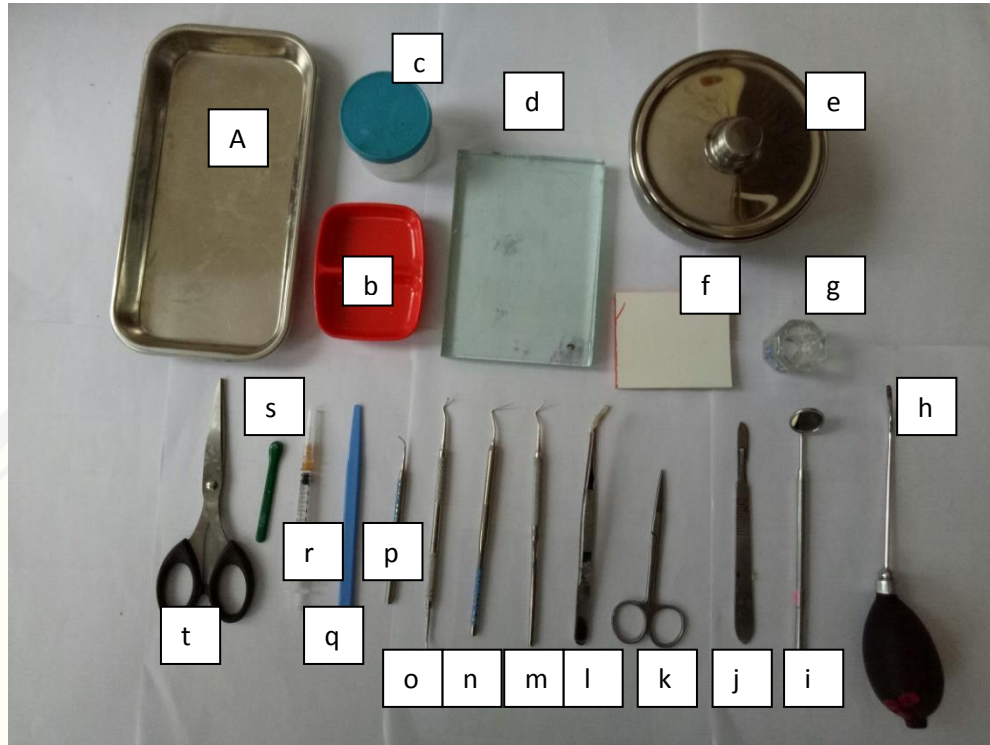
## B.4. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: sel_neutrofil						
LSD						
(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
caviton hari ke-3	caviton hari ke-7	3.500*	1.046	.006	1.22	5.78
	powder bioactive glass hari ke-3	19.500*	1.046	.000	17.22	21.78
	powder bioactive glass hari ke-7	20.250*	1.046	.000	17.97	22.53
caviton hari ke-7	caviton hari ke-3	-3.500*	1.046	.006	-5.78	-1.22
	powder bioactive glass hari ke-3	16.000*	1.046	.000	13.72	18.28
	powder bioactive glass hari ke-7	16.750*	1.046	.000	14.47	19.03
powder bioactive glass hari ke-3	caviton hari ke-3	-19.500*	1.046	.000	-21.78	-17.22
	caviton hari ke-7	-16.000*	1.046	.000	-18.28	-13.72
	powder bioactive glass hari ke-7	.750	1.046	.487	-1.53	3.03
powder bioactive glass hari ke-7	caviton hari ke-3	-20.250*	1.046	.000	-22.53	-17.97
	caviton hari ke-7	-16.750*	1.046	.000	-19.03	-14.47
	powder bioactive glass hari ke-3	-.750	1.046	.487	-3.03	1.53

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

## C. Foto Alat dan Bahan penelitian

### C.1. Foto Alat Penelitian



Keterangan :

- |                            |                     |
|----------------------------|---------------------|
| a. Baki stainless          | k. Gunting kecil    |
| b. Tempat saos             | l. Pinset           |
| c. Tempat fiksasi jaringan | m. Sonder Lurus     |
| d. Glassplate              | o. Ekscavator       |
| e. Tempat tampon           | p. Liner Applicator |
| f. Paper pad               | r. Syringe 1 cc     |
| g. Dappen glass            | s. Sendok GI        |
| h. Chip blower             | t. Gunting besar    |
| i. Kaca mulut no. 3        |                     |
| j. Scalpel dan blade       |                     |



Lampu belajar



Wadah ayakan



Sendok



Timbangan



pH meter



Magnetic stirrer



Oven



Muffle furnace



Magnet stick





Gelas ukur

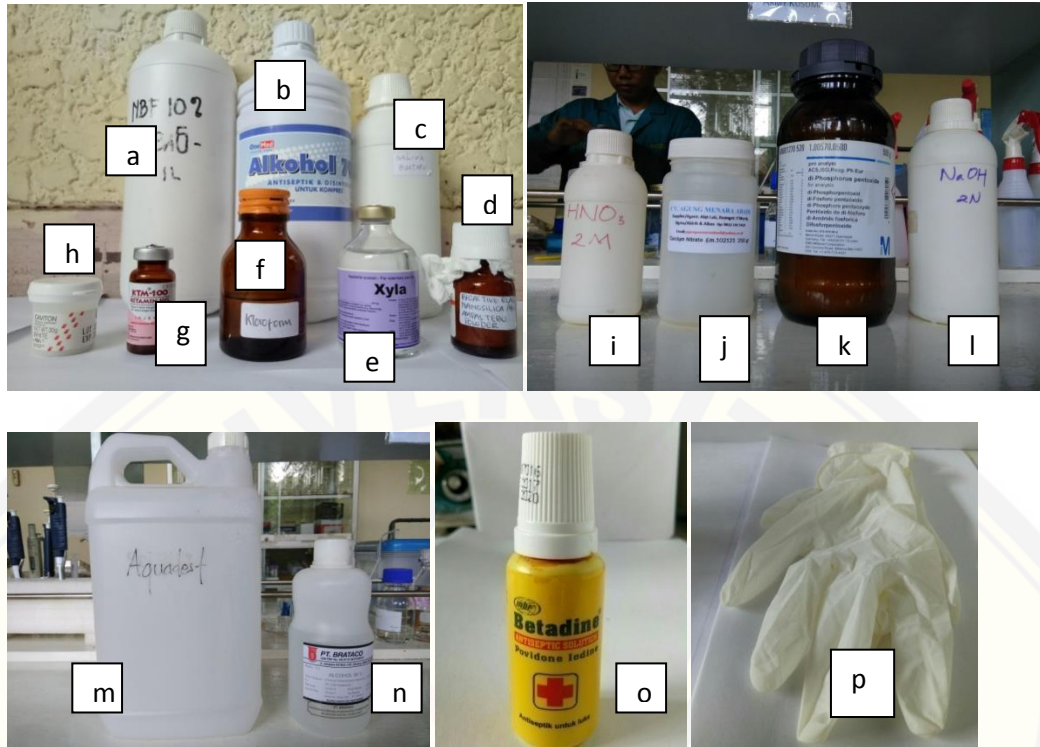


Bur low speed



Mortar dan cawan

C.2. Foto bahan penelitian



Keterangan gambar :

- |  |  |
|--|--|
| a. NBF 10 %  | i. HNO <sub>3</sub> 2 M                                  |
| b. Alkohol 70 %                                      | j. Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> o |
| c. Saliva buatan                                     | k. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>                         |
| d. Powder bioactive glass nano silica abu ampas tebu | l. NaOH  |
| e. Xylasin   | m. Aquadest  |
| f. Kloroform   | n. Alkohol 50%   |
| g. Ketamin   | o. Betadine  |
| h. Caviton   | p. Handscoon   |

## D. Surat Keterangan

### D.1 Ethical Clearance

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)          FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER  <i>(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH          DENTAL FACULTY UNIVERSITY OF JEMBER)</i></p>
<p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b>  <u>No. 012/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>	
Title of research protocol	: "Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Netrofil Pada Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan"
Document approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Nanik Rahmawati
Member of research	: -
Responsible Physician	: Nanik Rohmawati
Date of approval	: February 5 <sup>th</sup> , 2018
Place of research	: 1. Bioscience Laboratory Politeknik Negeri Malang 2. Biomedical Laboratory at Faculty of Pharmacy in University of Jember 3. Anatomical Pathology Laboratory Medicine Faculty University of Brawijaya
<p>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.</p>	
<p>Jember, February 10<sup>th</sup>, 2018</p>	
<p>Dean for Research, Community Service and Collaboration Faculty of Dentistry University of Jember</p>  	<p>Chairman of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry University of Jember</p>  
<p>(drg. R. Rphardyan P. M. Kes, Sp. Pros)</p>	<p>(Dr. I Dewa Ayu Susilawati, drg. M. Kes.)</p>

## D.2. Surat Identifikasi Tanaman Tebu



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: (6 22 /IPH.06/HM/XI/2017

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

Nama : Nanik Rahmawati  
NIM : 141610101006  
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Tanggal material diterima : 27, Oktober 20017

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

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

## Referensi:

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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 4 Nopember 2017

An Kepala

Balai Konservasi Tumbuhan, Koleksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Sugeng, Budiharta, M.Sc, Ph.D

### D.3 Surat Ijin Penelitian Pembuatan *Bioactive Glass Nano Silica* Abu Ampas Tebu



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

Nomor : 0367 /UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

25 JAN 2018

Kepada Yth  
Kepala Laboratorium Biosains  
Politeknik Negeri Jember  
Di  
Jember

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

- |    |                   |  |
|----|-------------------|--|
| 1  | Nama              | : Nanik Rahmawati  |
| 2  | NIM               | : 141610101006   |
| 3  | Semester/Tahun    | : 2017/2018  |
| 4  | Fakultas          | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat            | : Jl. Mastrip 2 No.36 Jember   |
| 6  | Judul Penelitian  | : Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan                  |
| 7  | Lokasi Penelitian | : Laboraturium Biosains Politeknik Negeri Jember   |
| 8  | Waktu             | : Nopember 2017 s/d Selesai  |
| 9  | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan |
| 10 | Dosen Pembimbing  | : 1. drg. Niken Probosari, M.Kes<br>2. drg. Dyah Indartin, M.Kes   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dekan  
Dekan I,

Dr. IDA Susilawati, M.Kes  
NIP. 196109031986022001

## D.4 Surat Ijin Penelitian Pembuatan Sediaan Preparat Jaringan



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

Nomor : 0964 /UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

02 FEB 2018

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik  
Fakultas Kedokteran Gigi 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              | : Nanik Rahmawati  |
| 2  | NIM               | : 141610101006   |
| 3  | Semester/Tahun    | : 2017/2018  |
| 4  | Fakultas          | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat            | : Jl. Mastrip 2 No.36 Jember   |
| 6  | Judul Penelitian  | : Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan                    |
| 7  | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Waktu             | : Nopember 2017 s/d Selesai  |
| 9  | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan |
| 10 | Dosen Pembimbing  | : 1. drg. Niken Probosari, M.Kes<br>2. drg. Dyah Indartin, M.Kes   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan  
Wakil Dekan I,



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

## D.5 Surat Ijin Penelitian Perlakuan pada Hewan Coba dan Penghitungan Sel Neutrofil



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

Nomor : 0367 /UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

25 JAN 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              | : Nanik Rahmawati  |
| 2  | NIM               | : 141610101006   |
| 3  | Semester/Tahun    | : 2017/2018  |
| 4  | Fakultas          | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat            | : Jl. Mastrip 2 No.36 Jember   |
| 6  | Judul Penelitian  | : Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan                  |
| 7  | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember  |
| 8  | Waktu             | : Nopember 2017 s/d Selesai  |
| 9  | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Pengaruh Bioactive Glass Nanosilica Abu Ampas Tebu Terhadap Jumlah Neutrofil Pulpa Gigi Tikus Wistar Jantan |
| 10 | Dosen Pembimbing  | : 1. drg. Niken Probosari, M.Kes<br>2. drg. Dyah Indartin, M.Kes   |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan  
Wakil Dekan I,  
  
Drs. drg. IDA Susilawati, M.Kes  
NIP. 196109031986022001