

Efektivitas Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*) Dalam Menjaga Viabilitas Sel Fibroblas Gigi Avulsi Pada Tikus Wistar Jantan

Effectiveness of Avocado Seed Extract (Persea Americana Mill) in Maintaining Fibroblast Cell Viability of Avulsed Teeth in Male Wistar Rats

¹Puspa Dila Rohmaniar*, ²Dzuanar Rahmawan, ³Basma Rosandi Prakosa

Fakultas Kedokteran Gigi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 2023-08-27

Accepted: 2023-12-07

Publish Online: 2023-12-23

Kata Kunci:

Avulsi, Viabilitas, Fibroblast, Alpukat

Keywords:

Avulsion, Viability, Fibroblast, Avocado

Abstrak

Latar Belakang: Avulsi merupakan trauma kompleks yang ditandai dengan lepasnya gigi dari socketnya. Kondisi avulsi memerlukan segera tindakan replantasi untuk mengembalikan gigi pada socketnya. Keberhasilan tindakan tersebut dipengaruhi oleh viabilitas dari sel fibroblas. Biji alpukat (*Persea Americana Mill*) merupakan salah satu tanaman yang mudah didapatkan dan mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, serta antibakteri. Ekstrak biji alpukat diketahui berperan dalam penyembuhan luka untuk meningkatkan jumlah sel fibroblas. **Tujuan:** untuk mengetahui efektivitas ekstrak Biji Alpukat dalam menjaga viabilitas sel fibroblas gigi avulsi pada tikus wistar jantan. **Metode:** Sampel yang digunakan adalah 24 gigi tikus wistar diekstraksi dan dibagi menjadi 2 kelompok, 1 kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok dibagi menjadi 2 subkelompok berdasarkan lama perendaman yaitu 30 dan 60 menit. Selanjutnya sel fibroblas pada ligamen periodontal ditripsinasi kemudian dihitung dengan hemositometer pada mikroskop cahaya. Data kemudian dilakukan pengujian menggunakan software SPSS 24. **Hasil:** Terdapat perbedaan signifikan jumlah viabilitas sel fibroblast pada perendaman dengan menggunakan ekstrak biji alpukat dan HBSS. **Simpulan:** Perendaman dengan menggunakan HBSS 30 menit menghasilkan viabilitas sel fibroblast yang paling baik.

Abstract

Background: Avulsion is a complex trauma characterized by the loss of a tooth from its socket. It requires immediate replantation to return the tooth to its socket. The success of replantation is influenced by the viability of the fibroblast cells. Avocado seed (*Persea Americana Mill*) is a plant that is easily available and contains flavonoids and saponins which have anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial activities. It is known to play a role in wound healing by increasing the number of fibroblast cells. **Objective:** to determine the effectiveness of avocado seed extract in maintaining the viability of avulsed tooth fibroblast cells in male Wistar rats. **Methods:** The sample used was 24 Wistar rat teeth extracted, there are 1 control group and 1 treatment group, where each group was divided into 2 subgroups based on soaking time, namely 30 and 60 minutes. Furthermore, fibroblast cells in the periodontal ligament are trypsinized and then counted with a hemocytometer on a light microscope. The data were then tested using SPSS 24 software. **Results:** There was a significant difference in the amount of fibroblast cell viability in immersion using avocado seed extract and HBSS. **Conclusion:** Soaking using HBSS for 30 minutes produced the best fibroblast cell viability.

PENDAHULUAN

Trauma dentoalveolar merupakan cedera yang dapat mengakibatkan terjadinya luksasi, avulsi, fraktur gigi, trauma tulang alveolar serta jaringan disekitar lokasi trauma (Arbi, etl al., 2016). Avulsi adalah cedera traumatis kompleks yang ditandai dengan terlepasnya seluruh gigi dari soketnya dan dapat menyebabkan kerusakan parah pada jaringan pendukungnya (Khinda, et al., 2017). Salah satu tindakan untuk mengembalikan gigi yang avulsi adalah dengan tindakan replantasi. Replantasi adalah penanaman kembali gigi avulsi ke dalam soket gigi yang bertujuan untuk mengembalikan tampilan estetik dan mempertahankan gigi secara fungsional pada tempatnya untuk pertumbuhan normal alveolar ridge (Demir, et al., 2020). Keberhasilan replantasi gigi tergantung pada pemeliharaan viabilitas sel ligamen periodontal (fibroblas) yang melekat pada gigi yang avulsi. Replantasi gigi dianjurkan untuk dilakukan secepat mungkin untuk menjaga viabilitas sel fibroblas. Viabilitas sel fibroblas akan berkurang jika gigi tidak dilakukan replantasi sebelum 60 menit (Abraham, et al., 2021). Tindakan replantasi gigi avulsi memerlukan media penyimpanan untuk meningkatkan dan mempertahankan viabilitas sel ligamen periodontal (Khinda, et al., 2017). The American Association of Endodontic merekomendasikan Hanks Balances Salt Solution (HBSS) sebagai pilihan media penyimpanan terbaik untuk gigi avulsi, karena bersifat biokompatibel terhadap sel ligamen periodontal, memiliki semua elektrolit dan glukosa yang dibutuhkan untuk mempertahankan metabolisme normal sel ligamen periodontal dan memiliki pH seimbang 8,9. HBSS tidak tersedia secara umum di Indonesia, sehingga diperlukan media penyimpanan alternatif yang dapat menjaga viabilitas sel fibroblast (Fajriyany et al., 2016). Syarat media penyimpanan harus memiliki sifat tertentu yang membuatnya dapat diterima untuk mempertahankan gigi avulsi, antara lain mudah didapat, memiliki sifat antimikroba, serta mampu menjaga sel ligamen periodontal (Khinda, et al., 2017). Pada beberapa penelitian dilaporkan bahwa terdapat beberapa media alternatif yang mudah didapatkan dipasaran salah satunya yaitu buah alpukat (Khinda, et al., 2017). Selama ini alpukat hanya dimanfaatkan buahnya saja untuk dikonsumsi, sedangkan biji alpukat tidak banyak dimanfaatkan. Biji alpukat (*Persea Americana Mill*) memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid atau steroid dan fenolik yang memiliki sifat antimikroba (ambarwati & Rustianai, 2022). Pada tindakan replantasi gigi akan melibatkan proses penyembuhan, dimana sel yang terlibat adalah sel fibroblast. Sel fibroblast yang melekat pada akar gigi memiliki peranan dalam pembentukan ligament periodontal. Flavonoid dan saponin memiliki peranan dalam peningkatan jumlah fibroblast. Perendaman gigi tikus wistar jantan dilakukan dengan durasi waktu 30 dan 60 karena waktu-waktu tersebut merupakan golden periode gigi avulsi (Moradian, et al., 2013; Fouad et al., 2020).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian ini adalah *true eksperimental laboratoris* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Berdasarkan rumus perhitungan besar sampel Federer, sampel yang digunakan adalah 24 gigi tikus wistar diekstraksi dan dibagi menjadi 2 kelompok, 1 kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok dibagi menjadi 2 subkelompok berdasarkan lama perendaman yaitu 30 dan 60 menit.

Pada penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan yang berumur 2-3 bulan sebanyak 246 ekor dengan berat 150-250 gram. Sebelum diberikan perlakuan, tikus wistar diadaptasikan selama 7-14 hari di dalam kandang.

Pembuatan ekstrak biji alpukat diawali dengan membersihkan biji alpukat yang telah

dipisahkan dari buahnya, kemudian ditiriskan dan dibentuk simplisia serbuk. Serbuk biji alpukat ditimbang sebanyak 250 g, dimasukkan dalam bejana maserasi menggunakan etanol 70%. Selanjutnya disaring untuk memisahkan ekstrak cair dan ampas, ampas selanjutnya diremaserasi dengan pelarut yang sama sebanyak 2 kali.

Pencabutan gigi tikus diawali dengan tindakan sterilisasi alat. Tikus dianestesi dengan secara peritoneal menggunakan ketamin 40-80 mg/kgBB. Pencabutan dilakukan pada gigi insisivus kiri rahang bawah menggunakan scalpel dan *needle holder* dengan arah pencabutan labial-lingual kemudian ditarik ke arah labial secara *atraumatic extraction*. Kemudian soket gigi diirigasi menggunakan saline solution (Luthfi et al, 2020).

Gigi tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok perendaman ekstrak biji alpukat dan kelompok kontrol dengan perendaman HBSS, masing-masing kelompok terdiri dari 6 gigi yang direndam selama 30 dan 60 menit. Gigi diambil dari larutan penyimpanan dengan pemegangan pada korona gigi, lalu dilakukan trypsinasi untuk merontokkan sel selama 30 menit di cawan petri mini dengan 4ml larutan versen trypsin (VT) sembari dikocok perlahan dengan rotomix. Larutan VT dipindahkan ke dalam *falcon tube* dan ditambahkan 400µl *fetal bovine serum* (FBS) pada masing-masing tube. Seluruh tube disentrifus selama 4 menit dengan kecepatan 1.500 rpm (Fajriyany et al., 2016).

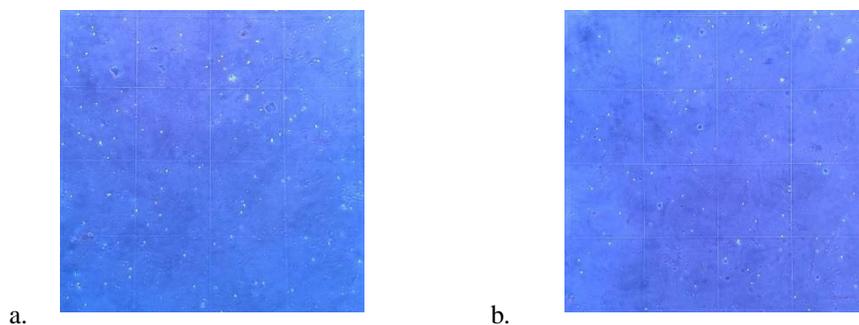
Penghitungan sel mati dan sel hidup fibroblas dilakukan dibawah mikroskop cahaya dan dilakukan penghitungan dengan hemositometer dengan cara:

1. Pastikan hemositometer sudah bersih menggunakan etanol 70%.
2. Campurkan perlahan endapan sel dan trypan blue 0,4% dengan perbandingan 1:1 (endapan sel 10µl dengan trypan blue 0,4% 10µl) kemudian di campurkan dalam eppendorf tube (Hadisaputri & Abdulah, 2020).
3. Pipet 10µl campuran suspensi sel dan trypan blue kemudian dimasukkan ke dalam hemositometer (Hadisaputri & Abdulah, 2020).
4. Hemositometer terdiri dari sembilan kotak besar di dalam kotak besar terdiri dari kotak-kotak kecil. Penghitungan sel dengan hemositometer menggunakan kotak yang berada disudut dari sembilan kotak tersebut dimana masing-masing kotak terdiri dari 16 kotak kecil dengan permukaan yang sama di dalamnya (Hadisaputri & Abdulah, 2020).
5. Hemositometer diletakkan dibawah mikroskop cahaya menggunakan pembesaran 10X20 (Kaur, et al., 2018). Lakukan penghitungan sel dimulai dari sudut kiri atas ke kanan, kemudian ke bawah dari kanan ke kiri, setelah itu ke bawah dimulai lagi dari kiri ke kanan. Semua sel yang menyentuh garis batas sebelah atas dan kiri dianggap masuk ke dalam ruangan dan dihitung, sedangkan sel yang menyentuh garis batas sebelah kanan dan bawah dianggap tidak masuk dan tidak dihitung (Hadisaputri & Abdulah, 2020).
6. Sel yang hidup akan memiliki sitoplasma yang jernih, sedangkan sel yang mati akan memiliki sitoplasma biru (Kaur, et al., 2018).
7. Presentase jumlah viabilitas dihitung dengan rumus:

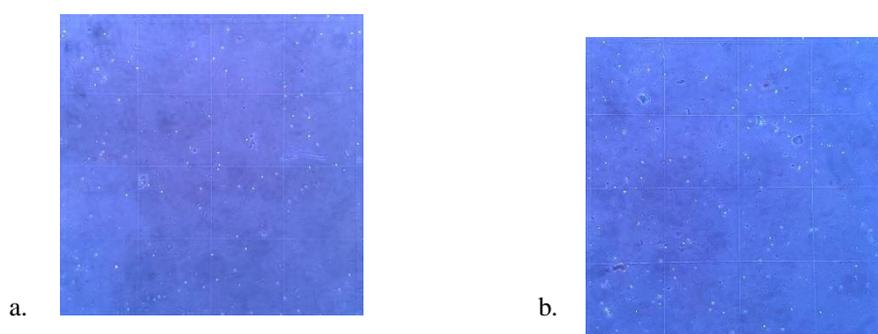
$$\% \text{ Viabilitas sel} = (\text{Jumlah sel hidup} / \text{umlah total seluruh sel}) \times 100\%$$

HASIL PENELITIAN

Penghitungan sel mati dan sel hidup fibroblas dilakukan dibawah mikroskop cahaya dan dilakukan penghitungan dengan hemositometer, diperoleh gambaran sebagai berikut:



Gambar Hasil sel fibroblas pada perendaman 30 menit: a. HBSS; b. Ekstrak biji alpukat



Gambar Hasil sel fibroblas pada perendaman 60 menit: a. HBSS; b. Ekstrak biji alpukat

Sel fibroblast hidup merupakan gambaran sel fibroblast dengan bentuk bulat, sedangkan bentuk sel lain yang tidak berbentuk bulat dihitung sebagai total sel.

Hasil dari penghitungan jumlah sel fibroblas diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1 Persentase viabilitas sel fibroblas pada perendaman 30 dan 60 menit

	Sel fibroblas hidup	Total%	Viabilitas sel	Std dev
Perendaman 30 menit				
Ekstrak Biji Alpukat	107	265	40.37%	4.37
HBSS	665	736	90.35%	3.55
Perendaman 60 menit				
Ekstrak Biji Alpukat	60	178	33.7%	13.49
HBSS	619	713	86.81%	4.31

Hasil data yang tertera pada tabel 1 menunjukkan jumlah sel fibroblas yang hidup setelah dihitung menggunakan hemositometer, kemudian dilakukan perhitungan % viabilitas sel menggunakan rumus jumlah sel hidup / jumlah jumlah total seluruh sel x 100%. Sel fibroblas hidup pada kelompok perendaman menggunakan HBSS dengan lama perendaman 30 menit menunjukkan hasil paling besar yaitu 665 dengan prosentase viabilitas sel yaitu 90.35% dan kelompok dengan perendaman ekstrak biji alpukat dengan lama perendaman 60 menit menunjukkan hasil paling kecil yaitu 60 dengan % viabilitas sel yaitu 33.7%

Pada penelitian ini, dilakukan analisis data untuk mengetahui perbedaan signifikansi pada masing-masing kelompok. Analisis data yang digunakan adalah uji non-parametrik menggunakan

uji Kruskal Walls dan dilanjutkan dengan uji lanjutan Post Hoc LSD. Uji normalitas menggunakan Saphiro Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50 ($n \leq 50$) dan untuk uji homogenitas menggunakan Levene's test.

Tabel 2. Uji normalitas Saphiro Wilk

Bahan Rendaman	Shapiro-Wilk (Sig)
Ekstrak Biji Alpukat 30 menit	0.053
HBSS 30 menit	0.45
Ekstrak Biji Alpukat 60 menit	0.53
HBSS 60 menit	0.78

Tabel 2 menunjukkan hasil uji normalitas data menggunakan uji Saphiro Wilk. Hasil menunjukkan nilai signifikansi seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi lebih dari 0.05, sehingga data tersebut berdistribusi normal ($p > 0.05$).

Tabel 3 Levene test

	Sig
Based on Mean	0.007
Based on Median	0.029
Based on Median and with adjusted df	0.079
Based on Trimmed mean	0.005

Tabel 3 menunjukkan hasil uji homogenitas data menggunakan uji Levene's. Hasil menunjukkan nilai signifikansi pada masing-masing kelompok berdasarkan rata-rata yaitu 0.007, sehingga data tersebut tidak homogen ($p < 0.05$).

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas, diketahui bahwa data tidak homogen. Syarat analisis data menggunakan uji One Way ANOVA tidak terpenuhi, sehingga akan dilakukan analisis data menggunakan uji non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis kemudian dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Tabel 4 Uji beda Kruskal Wallis

	Persentase
Kruskal-Wallis H	32.495
Asymp Sig.	.000

Hasil menunjukkan nilai signifikansi adalah 0.000. Nilai ini lebih kecil dari 0.05 ($p < 0.05$), sehingga dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok HBSS dan perendaman biji alpukat. Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis, selanjutnya dilakukan uji lanjutan Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan pada setiap kelompok.

Tabel 5 uji Mann Whitney

	Ekstrak biji alpukat 30'	Ekstrak biji alpukat 60'	HBSS 30'	HBSS 60'
Ekstrak biji alpukat 30'	-	0.2	0.004*	0.004*

Ekstrak biji alpukat 60'	0.2	-	0.004*	0.004*
HBSS 30'	0.004*	0.004*	-	0,109
HBSS 60'	0.004*	0.004*	0.109	-

Tabel 5 merupakan hasil uji lanjutan menggunakan uji Mann Whitney untuk perbedaan kemampuan dari masing-masing kelompok dalam menjaga viabilitas sel fibroblas gigi avulsi pada tikus wistar jantan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan baik dalam perendaman 30 menit maupun perendaman 60 menit. Hasil nilai signifikansi $p < 0.05$ menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak biji alpukat memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok perendaman HBSS pada perendaman 30 menit dan 60 menit.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil menunjukkan bahwa kelompok perendaman dengan menggunakan HBSS ataupun ekstrak biji alpukat selama 30 menit menunjukkan hasil persentase yang tinggi, hal ini dikarenakan sel ligamen periodontal memiliki kemampuan untuk berikatan dan berproliferasi kembali dengan permukaan akar selama 30 menit. Setelah 30 menit kapasitas fungsional ligamen periodontal akan mengalami penurunan (Kenny *et al.*, 2000).

Berdasarkan hasil uji senyawa aktif yang ada di dalam kandungan ekstrak biji alpukat pada penelitian ini, biji alpukat memiliki kandungan senyawa aktif tanin yang paling tinggi yaitu sebesar 6,18%, flavonoid sebesar 4,05% dan saponin sebesar 5,11%. Ketiga kandungan ekstrak biji alpukat tersebut kemungkinan berperan untuk menjaga vitalitas sel fibroblas karena memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Aktivitas antibakteri pada senyawa-senyawa tersebut dapat berperan sebagai pelindung sel dari bakteri dan virus sehingga proses proliferasi tidak terganggu (Sofiyah, 2014). Sedangkan, aktivitas antioksidan pada dapat melindungi proliferasi fibroblas dari kerusakan akibat stres oksidatif Nurdiana et al (2016). Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurdiana et al (2016), senyawa saponin dapat berperan dalam proliferasi sel fibroblas dengan cara saponin memiliki aktivitas antibakteri. Selain itu, saponin juga akan mengaktifkan fungsi dari transforming growth factor β (TGF- β), vascular endothelial growth factor (VEGF) dan fibroblas growth factor-1 (FGF-1). TGF- β dan FGF-1 akan menstimulasi migrasi dan proliferasi fibroblas. Kandungan senyawa yang juga diduga dapat berperan dalam proliferasi sel fibroblas yaitu kandungan tanin. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nurdiana et al (2016), senyawa tanin dapat berperan dalam proliferasi sel fibroblas dengan cara tanin merupakan antioksidan yang juga memiliki kemampuan untuk menginduksi TGF- β untuk proliferasi fibroblas. Tanin juga menginduksi limfokin untuk meningkatkan migrasi makrofag. Makrofag merangsang sekresi growth factor sehingga meningkatkan proliferasi fibroblas.

Selain saponin dan tanin, terdapat senyawa lain yang berperan dalam proliferasi sel fibroblas yaitu flavonoid. Sesuai penelitian yang dilakukan oleh Kurnia et al (2015), flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dan antibakteri. Mekanisme flavonoid dalam proliferasi sel fibroblas yaitu dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4+, yang kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (Specific Makrofag Activating Factor), yaitu molekul- molekul multipel yang dapat mengaktifkan makrofag. Makrofag yang

aktif dapat memproduksi hormone pertumbuhan (growth factor) yang dapat meningkatkan proliferasi fibroblas.

Namun pada penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah viabilitas sel fibroblast dengan perendaman ekstrak biji alpukat tidak sebaik perendaman dengan HBSS. Pada perendaman ekstrak biji alpukat baik pada penyimpanan 30menit ataupun 60 menit memiliki perbedaan signifikan dengan perendaman dengan HBSS. Jumlah viabilitas sel fibroblast dengan perendaman biji alpukat lebih sedikit daripada perendaman HBSS. Beberapa penelitian media penyimpanan gigi avulsi telah banyak dilakukan. Media penyimpanan yang paling ideal dan telah diuji adalah *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS). *The American Association of Endodontics* juga merekomendasikan HBSS sebagai media penyimpanan pilihan untuk gigi avulsi karena kemampuannya untuk mempertahankan viabilitas sel. Media tersebut memiliki elektrolit dan glukosa yang dibutuhkan untuk mempertahankan metabolisme normal sel dalam jangka waktu panjang. HBSS memiliki pH seimbang 7,2 dan memiliki osmolalitas 320 mOsm/l (Khinda *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Hwang *et al.* (2011), HBSS dapat mempertahankan sel fibroblas vital pada 24 jam pertama sebesar 93,3%. Meskipun demikian, HBSS tidak tersedia di banyak tempat kejadian traumatis yang biasanya terjadi seperti di sekolah, rumah, perkemahan dan arena olahraga dimana orang aktif secara fisik. Sebagai media penyimpanan HBSS tidak banyak dikenal dikalangan masyarakat dan cukup mahal (Khinda *et al.*, 2017).

SIMPULAN

Terdapat perbedaan signifikan antara jumlah viabilitas sel fibroblast pada gigi avulsi yang direndam ekstrak biji alpukat dan HBSS. Gigi yang direndam dengan HBSS memiliki viabilitas jumlah sel fibroblast yang lebih banyak daripada gigi avulsi yang direndam dengan ekstrak biji alpukat.

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian dengan menggunakan prosentase ekstrak biji alpukat yang berbeda.

REFERENSI

- Abraham, Y., Christy, R., Gomez-Kunicki, A., Cheng, T., Eskarous, S., Samaan, V., Khan, A., & Sholapurkar, A. 2021. Management of dental avulsion injuries: A survey of dental support staff in cairns, australia. *Dentistry Journal*, 9(1), 1–13.
<https://doi.org/10.3390/dj9010004>
- Alim, N., Hasan, T., Rusman, & Jasmiadi. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Asal Enrekang. *Prosiding Seminar Nasional SAINS Dan Terapan (SINTA)*, VI(April), 166–175.
- Ambarwati, R., & Rustiani, E. 2022. Formulasi dan Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) Dengan Polimer Plga. *Majalah Farmasetika*, 7(4), 305.
<https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v7i4.38549>

-
- Arbi, T.A., Novita, C.F. & Mulya. 2016. Tingkat Pengetahuan Dokter Gigi Muda Terhadap Penanganan Trauma Dentoalveolar Di Rumah Sakit Gigi Mulut Universitas Syiah Kuala. *Cakradonya Dent Journal*, Vol. 8, No. 2:98-104
- Aslantürk, Ö. S. 2018. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*, 1–18.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Demir, P., Guler, C., Kizilci, E., & Keskin, G. 2020. Survival of Avulsed Permanent Incisors in Children Following Delayed Replantation. *Niger J Clin Pract* Vol. 23, Issue 5:631-637
- Luthfi, M., Juliastuti, W.S., Rizky, Y.A., Wijayanti, E.H., Rachmawati, A.E. & Asyhari, N.P.O. 2020. Expression of Fibroblas Cells After Extraction of Wistar Rat Teeth After Topical Application of Okra Fruit (*Abelmoschus esculentus*) Gel. *Infectious Disease Reports*, Volume 12, Number s1: 8476.
- Fajriyany, F. R., Harijadi, A., Kamadjaja, D. B., Program, M., Gigi, S. K., Departemen, S., Mulut, B., Fakultas, M., & Gigi, K. 2016. Perbandingan efektivitas air kelapa kemasan dan susu UHT sebagai media penyimpanan gigi avulsi (Comparison of effectiveness of bottled coconut water and UHT milk as storage media for avulsed tooth). *J. Oral and Maxillofacial Surgery*, 5(2), 20–26.
- Fouad, A. F., Abbott, P. V., Tsilingaridis, G., Cohenca, N., Lauridsen, E., Bourguignon, C., O’Connell, A., Flores, M. T., Day, P. F., Hicks, L., Andreasen, J. O., Cehreli, Z. C., Harlamb, S., Kahler, B., Oginni, A., Semper, M., & Levin, L. 2020. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental Traumatology*, 36(4), 331–342.
<https://doi.org/10.1111/edt.12573>
- Kaur, B., Faktorová D, & Lukeš J. 2018. Cell Counting using a Haemocytometer (Naeubauer cell chamber) with Fixer. *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World* , 1–17.
- Kenny, J. D., Barret, E. J., Johnston, D. H., Sigal, M. J., & Tetenbaum, H. C. 2000. Clinical Management of Avulsed Permanent Incisors Using emdogain: Initial Report of an Investigation. *Clinical Practice*. 66(1):21.
- Khinda, V. I., Brar, G. S., Kallar, S., & Khurana, H. 2017. Clinical and Practical Implications of Storage Media used for Tooth Avulsion. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 10(2), 158–165. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1427>
- Kurnia, P. A., Ardhiyanto, H., & Suhartini. 2015. Potensi ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas soket pasca pencabutan gigi pada tikus wistar. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(1), 122–127.
- Moradian, H., Badakhsh, S., Rahimi, M., & Hekmatfar, S. 2013. Replantation of an avulsed maxillary incisor after 12 hours: Three-year follow-up. *Iranian Endodontic Journal*, 8(1), 33–36.

- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use of Mice As Experimental Animals in Laboratories That Refer To the Principles of Animal Welfare: a Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.10.1.134>
- Ulya, I., & Putra, I. P. R. A. (2016). Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Daun Melati (*Jasminum Sambac L. Ait*) Terhadap Jumlah Fibroblas Kulit Dalam Penyembuhan Luka Bakar Derajat Ii A Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmu Keperawatan (Journal of Nursing Science)*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.21776/ub.jik.2016.004.01.1>