

1. HYDROGEN PEROXIDE

2. BIOCOMPATIBILITY PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK

TKG 02/03

Pra

b

TESIS

BIOKOMPATIBILITAS HIDROGEN EROKSIDA DENGAN HIDROGEN PEROKSIDA HANGAT PADA KONSENTRASI TERTENTU

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



MYLIE
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

DEPI PRAHARANI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2002

**BIOKOMPATIBILITAS HIDROGEN
PEROKSIDA DENGAN HIDROGEN PEROKSIDA HANGAT
PADA KONSENTRASI TERTENTU
PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh :

**DEPI PRAHARANI
NIM. 099813098 / M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Tanggal 26 Maret 2002

lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 8 APRIL 2002**

Oleh :
Pembimbing Ketua



Dr. Boedihardjo, drg., M.Sc., Sp. Perio
NIP. 130 345 901

Pembimbing



Prof. Dr. M. Rubianto, drg., MS., Sp. Perio
NIP. 130 675 835

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Dr. Soetopo, drg., M.Sc. Sp.KG
NIP. 130 212 046

Telah diuji pada

Tanggal 26 Maret 2002

PANITIA PENGUJI TESIS

- Ketua : Dr. Hadi Soenartiyo, drg., M.Sc., Sp. PM
- Anggota : 1. Dr. Boedihardjo, drg., M.Sc., Sp. Perio
2. Prof. Dr. M. Rubianto, drg., MS., Sp. Perio
3. Dr. Sudarto Wirjokusumo, drg., Sp. BM
4. Hanindio Soelarso, drg., MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Pada kesempatan ini saya sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Pemerintah Republik Indonesia c.q Menteri Pendidikan Nasional atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan memperoleh BPPS.

Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana UNAIR atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Rektor Universitas Jember yang mengizinkan saya mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas ijin dan kesempatan yang diberikan sehingga saya dapat mengikuti pendidikan Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dr. Boedihardjo, drg., M.Sc., Sp.Perio selaku pembimbing utama yang telah mengorbankan waktunya untuk memberikan bimbingan, dorongan dan tambahan ilmu dengan penuh perhatian sehingga kami dapat menyelesaikan tesis ini.

Prof. Dr. M. Rubianto, drg., MS., Sp.Perio selaku pembimbing yang telah mengorbankan waktunya untuk memberikan bimbingan, dorongan dan tambahan ilmu dengan penuh perhatian sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Dr. Soetopo, drg., M.Sc., Sp.KG selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Gigi Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas arahan dan petunjuk untuk mengikuti dan menyelesaikan Program Magister.

Kepala Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya dan Kepala Bagian Penyakit Kuku dan Mulut beserta staf atas ijin dan bantuan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini.

Hanindio Soelarso, drg., MS. dan Herawati, drh., MKes. selaku konsultan yang telah membantu penyelesaian tesis ini.

Kedua orang tua tercinta, ayahanda Mochamad Sjaroni dan ibunda Lilik Marolah, hanya sembah sujud dan terima kasih yang ananda berikan serta adik-adikku tersayang (dik Wika, dik Oong dan dik Ova) atas doa dan dorongan semangat selama mengikuti pendidikan ini.

Khusus kepada suami tercinta Ir. Sulherman, ananda Zahrania dan Rachmania tersayang terima kasih atas doa, pengertian, dukungan dan pengorbanan yang telah memungkinkan bunda menyelesaikan pendidikan ini.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah yang Maha Pengasih dan Penyayang membalas segala amal dan budi baik yang telah diberikan.

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat yang bersifat biokompatibel. Uji biokompatibilitas dilakukan memakai teknik kultur sel dengan cara menghitung persentase sel yang hidup setelah kontak dengan masing-masing larutan selama 120 detik.

Awal dari proses penelitian ini adalah pengenceran hidrogen peroksida 3% dengan akuades steril sehingga tercapai konsentrasi 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%. Sampel penelitian terdiri dari 70 botol *Roux* yang berisi kultur sel *BHK-21* yang dibagi dalam 8 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol (tanpa perlakuan) dengan replikasi 7.

Metode penelitian adalah eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian untuk mengetahui pengaruh variabel bebas (hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat dengan konsentrasi 0,25% - 1%) terhadap variabel tergantung (biokompatibilitas) adalah *post test only control group design*. Data yang diperoleh dianalisis dari hasil perhitungan persentase sel hidup dengan memakai metode *die exclusion test*.

Teknik analisis yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah uji Analisis Varians satu arah dan uji *independent-t* dengan taraf kemaknaan $\alpha = 0,05$. Hasil uji Analisis Varians satu arah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan biokompatibilitas yang bermakna ($p = 0,000$) setelah pemberian hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat dengan konsentrasi 0,25% - 1% selama 120 detik. Dengan uji *independent-t* didapatkan hasil

adanya perbedaan biokompatibilitas yang bermakna ($p = 0,000$) setelah pemberian hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat pada masing-masing konsentrasi (0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%) selama 120 detik.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hidrogen peroksida 0,25% lebih biokompatibel dibandingkan hidrogen peroksida hangat 0,25%.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the biocompatibility of a certain concentration of hydrogen peroxide and warm hydrogen peroxide. The biocompatible test was done by using cell-culture technique, counting the percentage of living cell after making contact to each solution for about 120 second.

The study initiated to have 0,25% - 1% concentration of hydrogen peroxide which were got by adding sterile aquadest to hydrogen peroxide 3%. The sample of this study consisted of 70 bottles of cell lines BHK-21 that divided into 8 treatment groups and 2 control groups (without treatment) with replication 7.

The method of the study was experimental laboratory. The research design was post test only control group, in order to find out the influence of the independent variable (hydrogen peroxide and warm hydrogen peroxide with 0,25% - 1% concentration) to dependent variable (biocompatibility). The data, resulted from the percentage of living cell was analyzed by the die exclusion test method.

The hypothesis is examined by using the one-way variance analysis test and independent-t test with a level of significant of $\alpha = 0,05$. The result of one-way variance analysis test showed that there was a significant differences of biocompatibility ($p = 0,000$) after the application of hydrogen peroxide and warm hydrogen peroxide on the concentration of 0,25% - 1%. The result of the independent-t test showed that there was biocompatibility

significant differences ($p=0,000$) between hydrogen peroxide and warm hydrogen peroxide applied by concentration of 0,25%; 0,50%; 0,75% and 1% for 120 second.

The research concluded that hydrogen peroxide 0,25% was more biocompatible than warm hydrogen peroxide 0,25%.

Key words : Hydrogen peroxide, warm hydrogen peroxide, biocompatibility, cell culture.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	ix
Abstrak.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Hidrogen Peroksida.....	5
2.1.1 Sebagai Obat Kumur.....	6
2.1.1.1 Hidrogen Peroksida Hangat.....	7

2.1.2 Efek Samping.....	7
2.2 Kematian Sel.....	8
2.2.1 Mekanisme Umum Kematian Sel.....	8
2.3 Biokompatibilitas	11
2.3.1 Metode Kultur Sel.....	12
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...	15
3.1 Kerangka Konseptual	15
3.2 Hipotesis Penelitian	16
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	17
4.1 Jenis Penelitian.....	17
4.2 Rancangan Penelitian	17
4.3 Unit Eksperimental	17
4.4 Besar Sampel.....	17
4.5 Variabel Penelitian.....	18
4.5.1 Variabel Bebas	18
4.5.2 Variabel Tergantung	18
4.5.3 Variabel Terkendali.....	18
4.6 Definisi Operasional Variabel.....	18
4.7 Bahan Penelitian	19
4.8 Alat Penelitian	20
4.9 Lokasi Penelitian	20
4.10 Cara Kerja.....	20
4.10.1 Persiapan Bahan Uji.....	20
4.10.2 Persiapan Kultur Sel.....	21

4.10.3 Pengujian Biokompatibilitas.....	21
4.11 Analisis Data.....	22
4.12 Alur Penelitian.....	23
4.12.1 Uji Biokompatibilitas Hidrogen Peroksida	23
4.12.2 Uji Biokompatibilitas Hidrogen Peroksida Hangat	24
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	25
5.1 Data Penelitian.....	25
5.1.1 Persentase Sel Hidup Setelah Pemberian H ₂ O ₂ 0,25% - 1%.....	25
5.1.2 Persentase Sel Hidup Setelah Pemberian H ₂ O ₂ Hangat 0,25% - 1%.....	26
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian Uji Biokompatibilitas H ₂ O ₂ dan H ₂ O ₂ Hangat.....	27
BAB 6 PEMBAHASAN	33
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	37
7.1 Kesimpulan.....	37
7.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
Lampiran	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 : Nilai rata-rata dan simpangan baku persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 0,25% - 1%.....	26
Tabel 5.2 : Nilai rata-rata dan simpangan baku persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% - 1%	27
Tabel 5.3 : Hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 0,25% - 1% dengan uji Analisis Varians satu arah.....	29
Tabel 5.4 : Hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% - 1% dengan uji Analisis Varians satu arah	29
Tabel 5.5 : Hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 dan H_2O_2 hangat dengan uji <i>independent - t</i>	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 5.1 : Diagram batang rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 0,25% - 1 %	26
Gambar 5.2 : Diagram batang rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% - 1%	27
Gambar 5.3 : Gambaran mikroskopis sel <i>BHK-21</i> (kontrol) dengan mikroskop cahaya (100 x).....	29
Gambar 5.4 : Gambaran mikroskopis sel <i>BHK-21</i> setelah pemberian H_2O_2 0,25% dengan mikroskop cahaya (100 x).....	30
Gambar 5.5 : Gambaran mikroskopis sel <i>BHK-21</i> setelah pemberian H_2O_2 1% dengan mikroskop cahaya (100 x).....	30
Gambar 5.6 : Gambaran mikroskopis sel <i>BHK-21</i> setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% dengan mikroskop cahaya (100 x)	31
Gambar 5.7 : Gambaran mikroskopis sel <i>BHK-21</i> setelah pemberian H_2O_2 hangat 1% dengan mikroskop cahaya (100 x)	31
Gambar 5.8 : Gambaran mikroskopis sel hidup (a) dan sel mati (b) pada hemositometer dengan mikroskop cahaya (100 x).....	32

DAFTAR LAMPIRAN

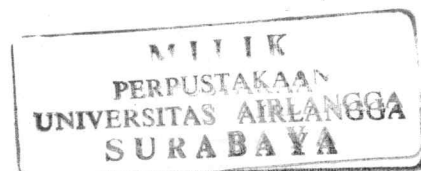
	Halaman
Lampiran 1 : Data persentase sel hidup setelah pemberian H ₂ O ₂ 0,25% - 1% dan H ₂ O ₂ hangat 0,25% - 1%.....	42
Lampiran 2 : Uji normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov test</i>	43
Lampiran 3 : Uji Analisis Varians satu arah	45
Lampiran 4 : Uji <i>independent-t</i>	47

BAB 1**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Semenjak 1978, *WHO (World Health Organization)* telah menyatakan bahwa penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit yang paling luas penyebarannya pada manusia (Manson & Eley, 1993). Penyakit periodontal ini dapat disebabkan oleh dua faktor, yaitu faktor lokal dan faktor sistemik, dimana efek kedua faktor tersebut saling berhubungan (Carranza, 1996).

Faktor lokal menyebabkan peradangan, sedangkan faktor sistemik memonitor reaksi jaringan terhadap faktor lokal sehingga dengan adanya keadaan sistemik yang tidak menguntungkan akan menimbulkan reaksi yang berlebihan terhadap iritasi lokal. Faktor lokal yang terutama berkaitan dengan penyakit periodontal adalah plak. Dengan kata lain, untuk terjadinya penyakit periodontal diperlukan adanya plak, tetapi plak dalam jumlah yang sedikit masih dapat diimbangi dengan mekanisme pertahanan tubuh. Keseimbangan ini dapat kacau apabila akumulasi plak bertambah (Carranza, 1996).

Cara yang efektif untuk mencegah terjadinya akumulasi plak adalah kontrol plak, yaitu dengan melakukan pembersihan atau pengangkatan plak pada permukaan gigi dan gingiva. Cara melakukan kontrol plak ini meliputi tindakan mekanis (menyikat gigi) dan penggunaan bahan kimia



yang bersifat antiplak diantaranya dalam bentuk obat kumur (Binney *et al.*, 1992 dan Carranza & Newman, 1996).

Berdasarkan bahan aktif yang dikandungnya, obat kumur dapat dibedakan menjadi tujuh golongan, yaitu golongan bisguanida, campuran fenol-minyak esensial, campuran amonia kuartenari, enzim, ion logam, bahan alamiah dan bahan oksigenase (Binney *et al.*, 1992; Daliemunthe, 1998). Salah satu obat kumur yang termasuk dalam golongan bahan oksigenase adalah hidrogen peroksida. Keistimewaan dari bahan ini adalah kemampuannya dalam banyak hal, antara lain dapat menghambat akumulasi plak (Sweet & Macynski, 1985), bersifat antibakteri, efektif melawan virus (termasuk *HIV*), mempunyai daya hemostatik yang ringan dan daya pembersih mekanik serta dapat digunakan sebagai antiseptik, desinfektan dan deodoran (Reynolds, 1993).

Sebagai obat kumur, konsentrasi hidrogen peroksida yang dianjurkan oleh Reynolds (1993) adalah 1,5%. Boyd (1989) mengatakan bahwa berkumur dengan hidrogen peroksida 1,5% sudah dapat menghambat akumulasi plak gigi dan menurunkan skor indeks gingiva. Disamping itu hasil penelitian dari Hasanuddin (1991) menunjukkan bahwa hidrogen peroksida 1,5% sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob. Sedangkan Weitzman *et al.* (1986) dan Jawetz (1987) menyetujui penggunaan hidrogen peroksida 3% sebagai obat kumur. Menurut Rich (1980), pada konsentrasi tersebut hidrogen peroksida dapat mengurangi akumulasi plak gigi dan debris. Selain itu Mc Phee & Cowley (1981) melaporkan bahwa hidrogen peroksida dengan konsentrasi 3% dapat

membersihkan daerah nekrotik pada kasus ANUG. Terbukti juga bahwa hidrogen peroksida 3% mempunyai sifat antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit periodontal seperti *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Eikenella coidens* dan *Capnocytophaga gingivalis* (Miyasaki, 1984).

British National Formulary (1989) menyarankan agar berkumur dengan hidrogen peroksida yang dicampur air hangat (hidrogen peroksida hangat). Cara tersebut biasanya juga digunakan untuk perawatan infeksi rongga mulut yang disebabkan bakteri anaerob seperti ANUG (Molinari, 1990; Carranza & Newman 1996). Tetapi menurut Reynolds (1993), hidrogen peroksida adalah bahan yang dapat mengalami dekomposisi bila terkena cahaya, air mendidih ataupun panas.

Disamping kelebihan yang dimilikinya, dari beberapa penelitian diketahui ternyata hidrogen peroksida juga mempunyai kekurangan. Dilaporkan oleh Rees & Orth (1986), bahwa pemakaian hidrogen peroksida 3% untuk mengontrol peradangan dalam mulut dapat menimbulkan iritasi, bahkan pada kasus tertentu malah dapat memperparah keadaan bila digunakan secara terus menerus dalam waktu yang lama. Sedangkan Weitzman *et al.* (1986) menyatakan bahwa hidrogen peroksida dengan konsentrasi 30% dapat bersifat karsinogenik.

Suatu bahan yang dalam pemakaiannya kontak dengan jaringan hidup seharusnya bersifat biokompatibel, artinya dapat diterima oleh lingkungan biologik (Levine & Edgerton, 1993), tidak toksik, tidak iritan, tidak karsinogen atau menyebabkan alergi (Mc. Cabe, 1990). Oleh karena

itu untuk mengetahui kelayakan hidrogen peroksida agar dapat diterima oleh jaringan tubuh, perlu dilakukan uji biokompatibilitas (Anusavice, 1996). Uji ini juga perlu dilakukan pada hidrogen peroksida hangat untuk membandingkan biokompatibilitasnya dengan hidrogen peroksida.

1.2 Rumusan Masalah

Bertitik tolak dari latar belakang di atas, dapat diajukan masalah penelitian sebagai berikut :

Apakah hidrogen peroksida lebih biokompatibel dibandingkan dengan hidrogen peroksida hangat pada konsentrasi tertentu ?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui biokompatibilitas hidrogen peroksida dibandingkan dengan hidrogen peroksida hangat pada konsentrasi tertentu.

1.4 Manfaat Penelitian

Dapat mengetahui dengan jelas efektifitas hidrogen peroksida pada temperatur normal dengan hidrogen peroksida pada temperatur hangat pada konsentrasi tertentu.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hidrogen Peroksida

Hidrogen peroksida berupa cairan jernih tidak berwarna yang terbentuk dari reaksi asam sulfat dan barium peroksida dan mempunyai rumus kimia H_2O_2 . Larutan ini seharusnya disimpan dalam tempat yang kedap udara dengan temperatur 15° sampai 30° C, terlindung dari cahaya dan tidak boleh disimpan untuk jangka waktu lama. Tetapi bila tidak mengandung stabiliser sebaiknya disimpan pada temperatur yang tidak lebih dari 15° C (British Pharmacopoeia, 1993).

Hidrogen peroksida terhitung stabil dalam keadaan yang sedikit lebih asam. Disamping itu larutannya yang pekat juga dianggap lebih stabil karena yang encer secara perlahan-lahan dapat mengalami dekomposisi dengan sendirinya atau jika berubah jadi basa. Adanya cahaya, air mendidih dan panas dapat meningkatkan terjadinya dekomposisi ini. Dekomposisi bisa juga disebabkan tidak kompatibelnya hidrogen peroksida dengan bahan-bahan organik, bahan-bahan yang dapat teroksidasi, beberapa logam, garam-garam logam, alkali, yod, permanganat dan bahan-bahan oksigenase lain yang lebih kuat (Reynolds, 1993).

Apabila hidrogen peroksida kontak dengan jaringan, darah atau saliva maka enzim peroksidase atau katalase yang terdapat pada jaringan, darah dan saliva itu akan memecahnya menjadi air dan oksigen bebas (Mansson *et al.*, 1990). Kemampuan melepaskan oksigen inilah yang

menyebabkannya menjadi toksik bagi bakteri-bakteri yang sensitif terhadap oksigen seperti bakteri anaerob (Miyasaki, 1986). Daya antibakteri tersebut akan bertahan selama oksigen dilepaskan dan biasanya hanya berlangsung dalam waktu yang singkat. Adanya bahan-bahan yang tidak kompatibel dengan hidrogen peroksida dapat menyebabkan berkurangnya daya antibakteri dari oksigen yang terlepas (Reynolds, 1993).

Selain bersifat antibakteri, hidrogen peroksida juga efektif melawan virus (termasuk *HIV*), mempunyai daya hemostatik yang ringan dan daya pembersih mekanik serta dapat digunakan sebagai antiseptik, desinfektan dan deodoran (Reynolds, 1993).

2.1.1 Sebagai Obat Kumur

Harvey (1985), Katzung (1987) dan Reynolds (1993) menganjurkan untuk menggunakan hidrogen peroksida 1,5% sebagai obat kumur. Menurut Boyd (1989), hidrogen peroksida 1,5% sudah dapat menghambat akumulasi plak gigi dan menurunkan skor indeks gingiva. Disamping itu juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob dan mempunyai daya iritasi yang ringan terhadap jaringan (Tetsch & Wagner, 1985; Hasanuddin, 1991).

Sedangkan Weitzman *et al.* (1986), Rees & Orth (1986) serta Jawetz (1987) menyetujui penggunaan hidrogen peroksida 3% sebagai obat kumur karena pada konsentrasi tersebut hidrogen peroksida dapat mengurangi akumulasi plak gigi dan debris (Rich, 1980), dapat membersihkan daerah nekrotik pada kasus *ANUG* (Mc. Phee & Cowley, 1981) dan mempunyai

sifat antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit periodontal seperti *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Eikenella coidens* dan *Capnocytophaga gingivalis* (Miyasaki, 1984).

2.1.1.1 Hidrogen Peroksida Hangat

British National Formulary (1989), Molinari (1990) serta Carranza & Newman (1996) menyarankan agar berkumur dengan hidrogen peroksida yang dicampur air hangat (hidrogen peroksida hangat). Menurut Farmakope Indonesia (1995), air hangat adalah air yang mempunyai temperatur 30° C sampai 40° C. Penggunaan air hangat disini bertujuan supaya sirkulasi darah meningkat sehingga membantu terjadinya penyembuhan yang lebih cepat (Chasteen, 1984) dan mengurangi timbulnya pembengkakan (Moore, 1985).

2.1.2 Efek Samping

Hasil penelitian dari Rees & Orth (1986) menunjukkan bahwa pemakaian hidrogen peroksida 3% untuk mengontrol peradangan dalam mulut dapat menimbulkan iritasi, bahkan pada kasus tertentu malah dapat memperparah keadaan bila digunakan secara terus menerus dalam waktu yang lama. Sedang menurut Reynolds (1993) pemakaian hidrogen peroksida sebagai obat kumur secara terus menerus dapat menyebabkan hipertrofi papila lidah yang *reversible*.

Goodman *et al.* (1985) dan Hasanuddin (1991) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi hidrogen peroksida maka semakin tinggi pula

daya iritasinya terhadap jaringan. Seperti yang dilaporkan oleh Reynolds (1993), bahwa larutan yang pekat dapat menyebabkan iritasi, yaitu rasa terbakar pada kulit dan membran mukosa yang berupa *eschar* putih. Diketahui pula bahwa hidrogen peroksida dengan konsentrasi 30% ternyata bersifat karsinogenik (Weitzman *et al.*, 1986).

2.2 Kematian Sel

Suatu rangsangan dapat merusak sel pada organ sasaran melalui berbagai cara sehingga terjadi jejas seluler yang dapat bersifat *reversible* maupun *irreversible* yang terjadi bila sel telah mencapai *point of no return* sehingga terjadi kematian sel (Timbrell, 1994).

2.2.1 Mekanisme Umum Kematian Sel

Meskipun mekanisme molekuler yang bertanggung jawab terhadap jejas sel dan menyebabkan kematian sel merupakan hal yang kompleks, tetapi secara biokimia ada empat hal penting yang umumnya menjadi perantara sehingga terjadi jejas atau kematian sel yaitu :

a. Oksigen dan oksigen turunan radikal bebas

Salah satu mekanisme penting dalam kerusakan membran adalah injuri yang dirangsang oleh radikal bebas terutama jenis oksigen yang teraktivasi (Robbins *et al.*, 1994). Oksigen merupakan salah satu radikal bebas yang paling mempunyai relevansi biologis. Efek bahan reaktif ini sangat luas tetapi ada beberapa reaksi yang paling berhubungan dengan jejas sel, yaitu :

- Peroksidasi lemak membran

Oksigen pada radikal bebas dapat menyebabkan peroksidasi lemak di dalam plasma dan membran organel sel. Ikatan rangkap pada asam lemak tak jenuh dari lemak membran mudah diserang oleh oksigen turunan radikal bebas terutama oleh gugus hidroksil. Interaksi radikal-lemak ini menyebabkan reaksi autokatalisis rantai sehingga memperluas kerusakan membran, organel dan sel.

- Perubahan protein akibat oksidasi

Reaksi oksidasi oleh radikal bebas dapat terjadi pada protein dan enzim. Pada protein, radikal bebas menambah ikatan silang perantara sulfhidril dari asam amino yang labil seperti histidin dan menyebabkan pemecahan rantai polipeptida (Robbins *et al.*, 1994). Pada enzim, bahan reaktif ini dapat mengoksidasi enzim *glutathione* (GSH) yang berperan melindungi sel. Penurunan GSH menyebabkan oksidasi lanjutan dan reaksi silang sehingga terjadi perubahan protein yang merupakan bagian terpenting dari mekanisme jejas sel (Timbrell, 1994).

- Lesi pada asam deoksiribonukleat (ADN)

Reaksi logam yang reaktif dengan ADN misalnya *thymine* menyebabkan kerusakan ADN yang terlibat dalam kematian sel.

b. Kalsium intraseluler dan kehilangan homeostasis kalsium

Iskemi dan toksin tertentu menyebabkan konsentrasi sitosolik meningkat sehingga terjadi *influx* ion kalsium melalui membran plasma dan pelepasan ion kalsium dari mitokondria dan retikulum

endoplasmik, akibatnya permeabilitas membran meningkat dan aktivasi beberapa enzim yang berpotensi merusak sel seperti fosfolipase, protease, endonuklease. Sebaliknya, kerusakan ini juga dapat disebabkan oleh gangguan permeabilitas membran (Robbins *et al.*, 1994; Timbrell, 1994).

c. Penurunan *Adenosine Triphosphat (ATP)*

Penurunan *ATP* sering disebabkan oleh iskemi, jejas toksik, meningkatnya endonuklease karena rangsangan ion kalsium yang meningkat di dalam sel. Keadaan ini berperan dalam kehilangan integritas membran plasma yang merupakan ciri kematian sel.

d. Kerusakan permeabilitas membran

Penyebab kerusakan ini secara tidak langsung antara lain akibat rangkaian peristiwa penurunan *ATP*, peroksidasi lemak, aktivasi fosfolipase oleh kalsium, dan secara langsung antara lain oleh sejumlah bahan fisik dan kimia seperti surfaktan. Surfaktan memecah lapisan lemak pada membran sehingga timbul gangguan permeabilitas, diikuti dengan *influx/efflux* ion serta substansi sel lainnya yang mengakibatkan sel membengkak dan pecah (Robbins *et al.*, 1994; Timbrell, 1994). Sebagai contoh, dapat dilihat dari mekanisme kerusakan sel bakteri akibat surfaktan. Surfaktan berbentuk polar dan terdiri dari gugus hidrofobik dan hidrofilik, dapat tertimbun pada membran lipoprotein yang juga bersifat polar sehingga konstituen sel yang esensial bocor dan berakhir dengan kematian sel (Schlegel & Schmidt, 1994).

2.3 Biokompatibilitas

Biokompatibilitas didefinisikan sebagai kehidupan yang harmonis dan tidak mempunyai pengaruh toksik atau injuri terhadap fungsi biologi. Di bidang kedokteran gigi, bahan-bahan yang digunakan harus lolos dari uji biokompatibilitas. Pengujian dilakukan untuk mengetahui apakah bahan tersebut memenuhi syarat untuk dapat diterima jaringan, yaitu tidak membahayakan pulpa dan jaringan lunak, tidak mengandung substansi yang bisa menyebabkan respons sistemik bila berdifusi dan diadsorpsi ke dalam sistem sirkulasi, bebas dari agen sensitisasi yang dapat menyebabkan respons alergi dan tidak berpotensi karsinogenik (Anusavice, 1996).

Uji biokompatibilitas ini menurut Anusavice (1996) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

- a. Uji pendahuluan (*primary test*), merupakan uji toksisitas dari bahan yang diletakkan secara langsung pada kultur sel atau di atas membran yang menutupi kultur sel.
- b. Uji sekunder (*secondary test*), yaitu bahan dievaluasi berdasarkan potensi radang atau imunogenik termasuk di dalamnya adalah uji toksisitas sistemik, uji toksisitas inhalansi, uji iritasi kulit, uji hipersensitifitas dan respons inflamasi.
- c. Uji aplikasi klinis, merupakan evaluasi bahan sesuai dengan pemakaian secara klinis.

Menurut Effendy (1993), uji biokompatibilitas yang sering digunakan adalah metode *in vitro* dengan menggunakan kultur sel .

2.3.1 Metode Kultur Sel

Kultur sel merupakan pertumbuhan sel di dalam suatu media setelah dipindahkan atau dilepaskan dari tubuh. Sel-sel tersebut dikultur secara hati-hati dalam *disk* yang telah dilapisi dengan larutan nutrisi. Larutan ini merupakan campuran yang kompleks dari bahan-bahan yang penting untuk kelangsungan hidup sel seperti bahan nutrisi, enzim, hormon dan faktor-faktor pertumbuhan (Williams & Wilkins, 1987).

Berdasarkan jenis selnya, metode kultur sel dibagi atas (Freshney, 1987) :

a. Kultur sel primer

Jenis sel yang dipakai dalam kultur sel primer adalah sel yang berasal langsung dari organisme asalnya.

b. Kultur sel diploid

Strain sel diperoleh dengan jalan melakukan pasase berkali-kali dari kultur sel primer dan pada umumnya sel akan mati setelah pasase mencapai 50 - 70 kali. Kecepatan pertumbuhan sel 5×10^4 sel/cm² permukaan kultur.

c. Kultur *cell lines*

Seperti kultur sel diploid, cara ini juga melakukan subkultur dari kultur sel primer tetapi mempunyai keuntungan yaitu pasase dapat dilakukan > 50 - 70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi (3×10^5 sel/cm²



permukaan kultur), integritas sel tetap terjaga, sel mampu membagi diri dan bermultiplikasi di dalam suspensi sehingga meningkatkan efisiensi kultur sel.

Salah satu tipe sel yang dapat dipakai untuk uji biokompatibilitas adalah sel fibroblas (*spindle shape*). Bentuknya seperti kumparan dengan nuklei oval dan prosesus sitoplasmik yang panjang. Biasanya sejajar dengan serabut kolagen dan dengan prosesus yang terbungkus oleh serabut. Fungsi sel ini mensintesis kolagen dan matriks, ikut dalam degradasi kolagen untuk perubahan bentuknya sehingga menghasilkan perubahan serabut utama yang konstan (Grossman *et al.*, 1995). Jenis sel fibroblas yang sering dipakai dalam teknik kultur *cell lines* antara lain sel *L-929* yang berasal dari fibroblas paru-paru tikus dan sel *BHK-21* yang berasal dari fibroblas ginjal *hamster* (Freshney, 1987).

Pemakaian metode kultur sel dalam uji biokompatibilitas didasarkan pada pertimbangan antara lain (Freshney, 1987) :

- a. meningkatnya tekanan dari masyarakat untuk mengurangi pemakaian binatang sebagai bahan percobaan
- b. lingkungan pada kultur sel (pH, suhu, tekanan osmotik O₂ dan CO₂) lebih terkontrol
- c. sampel sel homogen
- d. kultur sel terpapar secara langsung oleh bahan yang diuji
- e. lebih ekonomis

Selain itu metode ini juga mempunyai keuntungan seperti : hasilnya dapat dicapai dengan cepat, sensitif terhadap bahan-bahan toksik,

toksisitas dapat diukur secara kuantitatif dan respons terhadap sel hidup dapat diamati secara langsung (Kamadajaja, 1997).

Metode yang paling banyak digunakan, cepat dan sederhana untuk menguji biokompatibilitas suatu bahan adalah metode pengujian viabilitas dengan *die exclusion test* yang memakai zat warna seperti *tryphan blue*, *eosin* atau *nigrosin*. Uji viabilitas sel ini didasarkan pada kerusakan integritas membran sel yang terjadi setelah diberi perlakuan, yang ditentukan dengan penyerapan zat warna ke dalam sel. Sel hidup ditandai dengan bentuk yang bulat utuh dan warna yang terang (tidak menyerap zat warna), sedangkan sel mati akan menyerap warna biru dan dapat disertai dengan bentuk yang tidak utuh lagi. Sel yang hidup dan mati pada hemositometer dihitung dan persentase sel yang hidup dihitung dengan memakai rumus dari Bird & Forrester (1981) :

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Jumlah sel yang hidup}}{\text{Jumlah sel yang hidup} + \text{sel yang mati}} \times 100\%$$

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Penyakit periodontal terutama disebabkan oleh plak. Istilah plak digunakan untuk menggambarkan penumpukan bakteri pada permukaan gigi atau pada struktur-struktur keras lainnya dalam mulut. Plak merupakan material lunak yang melekat erat pada gigi dan sulit dibersihkan oleh aliran saliva atau dengan penyemprotan air secara perlahan-lahan. Plak dalam jumlah yang sedikit masih dapat diimbangi dengan mekanisme pertahanan tubuh, tetapi keseimbangan ini dapat kacau apabila akumulasi plak bertambah (Carranza, 1996).

Cara yang efektif untuk mencegah terjadinya akumulasi plak adalah kontrol plak dimana salah satu caranya dengan menggunakan bahan kimia yang bersifat antiplak, diantaranya dalam bentuk obat kumur. Hidrogen peroksida menjadi salah satu pilihan obat kumur karena selain dapat menghambat akumulasi plak gigi juga bersifat antibakteri, efektif melawan virus (termasuk virus *HIV*), mempunyai daya hemostatik yang ringan dan pembersih mekanik serta dapat digunakan sebagai antiseptik, desinfektan dan deodoran (Sweet & Macynski, 1985; Reynolds, 1993).

Sebagai obat kumur tentu saja dalam pemakaiannya hidrogen peroksida akan kontak dengan jaringan rongga mulut sehingga harus dipertimbangkan biokompatibilitasnya. Seperti yang didapat dari hasil beberapa penelitian ternyata hidrogen peroksida dapat menyebabkan iritasi

pada jaringan (Goodman *et al.*, 1985; Rees & Orth, 1986; Hasanuddin, 1991; Reynolds, 1993).

Apabila hidrogen peroksida kontak dengan jaringan, darah atau saliva maka enzim peroksidase atau katalase yang terdapat pada jaringan, darah dan saliva tersebut akan memecahnya menjadi air dan oksigen bebas (Mansson *et al.*, 1990). Menurut Robbins *et al.* (1994), oksigen merupakan salah satu perantara dalam mekanisme molekuler yang bertanggung jawab terhadap jejas sel dan menyebabkan kematian sel.

British National Formulary (1989), Molinari (1990) serta Carranza & Newman (1996) menyarankan agar berkumur dengan hidrogen peroksida yang dicampur air hangat (hidrogen peroksida hangat). Penggunaan air hangat disini bertujuan supaya sirkulasi darah meningkat sehingga membantu terjadinya penyembuhan yang lebih cepat (Chasteen, 1984) dan mengurangi timbulnya pembengkakan (Moore, 1985). Di sisi lain adanya cahaya, air mendidih dan panas dapat meningkatkan dekomposisi hidrogen peroksida (Reynolds, 1993) sehingga oksigen yang terlepas juga akan meningkat. Dan pada akhirnya terjadi peningkatan kematian sel.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hidrogen peroksida lebih bersifat biokompatibel dibandingkan hidrogen peroksida hangat pada konsentrasi tertentu.

BAB 4**METODE PENELITIAN**

4.1 Jenis Penelitian : Eksperimental laboratoris.

4.2 Rancangan Penelitian : *Post test only control group design*

4.3 Unit Eksperimental

- a. Hidrogen peroksida
- b. Hidrogen peroksida hangat

4.4 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan melalui estimasi jumlah sampel menurut Steel & Toorie (1981) :

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{\sigma^2 (z_{\alpha})^2}{d^2} \\
 &= \frac{(0,5)^2 \cdot (1,96)^2}{(0,375)^2} \\
 &= 6,86 \sim 7
 \end{aligned}$$

Keterangan :

z_{α} = harga standar normal ($\alpha = 0,05$)

σ = varians populasi

d = penyimpangan yang ditolerir

n = jumlah sampel

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat dalam berbagai konsentrasi

4.5.2 Variabel Tergantung

Perbedaan biokompatibilitas hidrogen peroksida dengan hidrogen peroksida hangat

4.5.3 Variabel Terkendali

- a. Jenis kultur sel yang digunakan
- b. Waktu kontak sel *BHK-21* dengan hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat
- c. Volume hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat
- d. Teknis pelaksanaan penghitungan sel *BHK-21* yang hidup dan yang mati oleh peneliti

4.6 Definisi Operasional Variabel

- a. Konsentrasi hidrogen peroksida

Konsentrasi hidrogen peroksida adalah besarnya persentase hidrogen peroksida, yaitu : 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%.

b. Konsentrasi hidrogen peroksida hangat

Konsentrasi hidrogen peroksida hangat adalah besarnya persentase hidrogen peroksida yang dihangatkan (40°C), yaitu : 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%.

c. Biokompatibilitas

Biokompatibilitas dilakukan dengan cara uji toksisitas terhadap kultur sel fibroblas (*cell lines BHK-21*) berdasarkan jumlah sel yang hidup dan yang mati. Jumlah sel *BHK-21* yang hidup adalah jumlah sel *BHK-21* yang terlihat berwarna putih (transparan) dengan bantuan mikroskop dan dihitung pada hemositometer. Jumlah sel *BHK-21* yang mati adalah jumlah sel *BHK-21* yang terlihat berwarna biru dengan bantuan mikroskop dan dihitung pada hemositometer. Biokompatibilitas bahan ditentukan berdasarkan persentase sel yang hidup.

4.7 Bahan Penelitian

- a. Hidrogen peroksida 3% (Kimia Farma, Indonesia)
- b. Akuades (Kimia Farma, Indonesia)
- c. Sel *Baby Hamster Kidney (BHK-21)* (PUSVETMA, Surabaya)
- d. Media *Eagle's Minimum Essential Medium (Eagle's MEM)* (PUSVETMA, Surabaya)
- e. *Phospat Buffer Saline (PBS)* 10% (Merck, Germany)
- f. *Trypsin versene* 0,25% (Merck, Germany)

- g. *Tryphan blue* 0,4% (Merck, Germany)
- h. *Bovine serum* (PUSVETMA, Surabaya)

4.8 Alat Penelitian

- a. Botol kultur *Roux* (Schoot Duran, Germany)
- b. Pipet (Pyrex, Japan)
- c. *Laminar flow* (Oliphant, Australia)
- d. Inkubator (Mettler, Germany)
- e. Mikroskop cahaya (Olympus CK, Japan)
- f. Hemositometer (Neubauer, Switzerland)
- g. *Filter unit milipore* 0,2 μm (Sartorius, Germany)
- h. *Water bath* (Qualtex-Watson Victor Ltd)
- i. Termometer

4.9 Lokasi Penelitian

Laboratorium Penyakit Mulut dan Kuku (PMK), Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya.

4.10 Cara Kerja

4.10.1 Persiapan Bahan Uji

Bahan uji didapatkan dari hidrogen peroksida yang beredar di pasaran yaitu H_2O_2 3% yang disterilkan melalui penyaringan dengan menggunakan *filter unit milipore* 0,2 μm . Sediaan hidrogen peroksida hangat diperoleh

dengan menghangatkan hidrogen peroksida sampai mencapai suhu 40° C dan kehangatan dipertahankan pada suhu tersebut dalam *water bath*.

4.10.2 Persiapan Kultur Sel

Sel *BHK-21* ditanam dalam botol kultur *Roux* yang berisi media *Eagle's MEM* ditambah 10% *bovine serum* dan *PBS* lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37° C. Setelah *confluent*, media dibuang dan dicuci dengan larutan *PBS* 2 kali.

4.10.3 Pengujian Biokompatibilitas

Bahan uji yang sudah steril dicampur dengan media *Eagle's MEM*, dimasukkan ke dalam botol kultur *Roux* yang berisi sel, kemudian diinkubasi selama 120 detik pada suhu 37° C. Selanjutnya media dibuang dan dicuci dengan *PBS* 2 kali untuk membersihkan sisa hasil metabolisme sel. Lalu ditripsinasi dengan larutan *trypsin versene* 0,25% untuk merontokkan sel yang melekat pada dinding botol kultur *Roux* dengan cara ditunggu beberapa saat. Kemudian diberi lagi media *Eagle's MEM* untuk mendapatkan suspensi sel. Diambil 0,1 ml suspensi sel, ditambah 0,9 ml *tryphan blue* 0,4% dan disemprot dengan pipet sampai homogen. Setelah itu diambil lagi 0,1 ml dan dimasukkan dalam alat hemositometer untuk dilakukan penghitungan. Alat hemositometer terdiri dari 9 kotak sehingga hasil yang diperoleh berupa rata-rata jumlah sel *BHK-21* yang hidup dan yang mati dari kesembilan kotak tersebut. Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Sel yang hidup ditandai

dengan warna putih (transparan), sedangkan sel yang mati menyerap warna biru. Persentase sel yang hidup dihitung berdasarkan cara Bird & Forrester (1981), yaitu :

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Jumlah sel yang hidup}}{\text{Jumlah sel yang hidup} + \text{sel yang mati}} \times 100\%$$

Keterangan :

Semakin besar hasil persentase menunjukkan semakin banyak sel yang hidup. Hal ini berarti toksisitas bahan yang digunakan rendah. Sebaliknya hasil persentase yang kecil menunjukkan semakin banyak sel yang mati. Hal ini berarti toksisitas bahan yang digunakan tinggi.

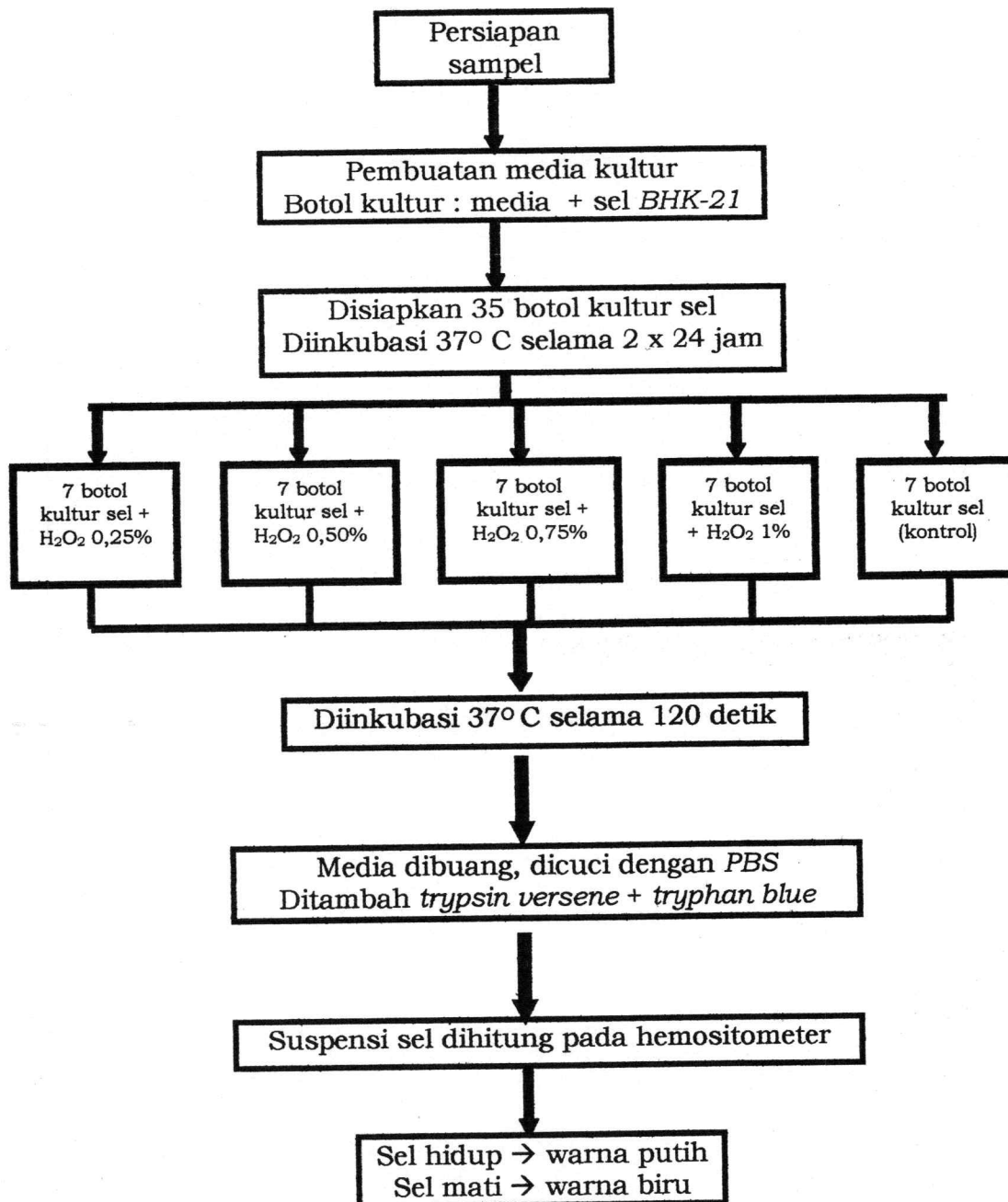
4.11 Analisis Data

Dalam penelitian ini, data yang diperoleh dari setiap pemeriksaan dianalisis secara statistik dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menggunakan uji statistik sebagai berikut :

- a. Uji Analisis Varians satu arah, untuk melihat perbedaan biokompatibilitas hidrogen peroksida dengan konsentrasi 0,25% - 1%.
- b. Uji Analisis Varians satu arah, untuk melihat perbedaan biokompatibilitas hidrogen peroksida hangat dengan konsentrasi 0,25% - 1%.
- c. Uji *independent-t*, untuk membandingkan biokompatibilitas hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat pada setiap konsentrasi.

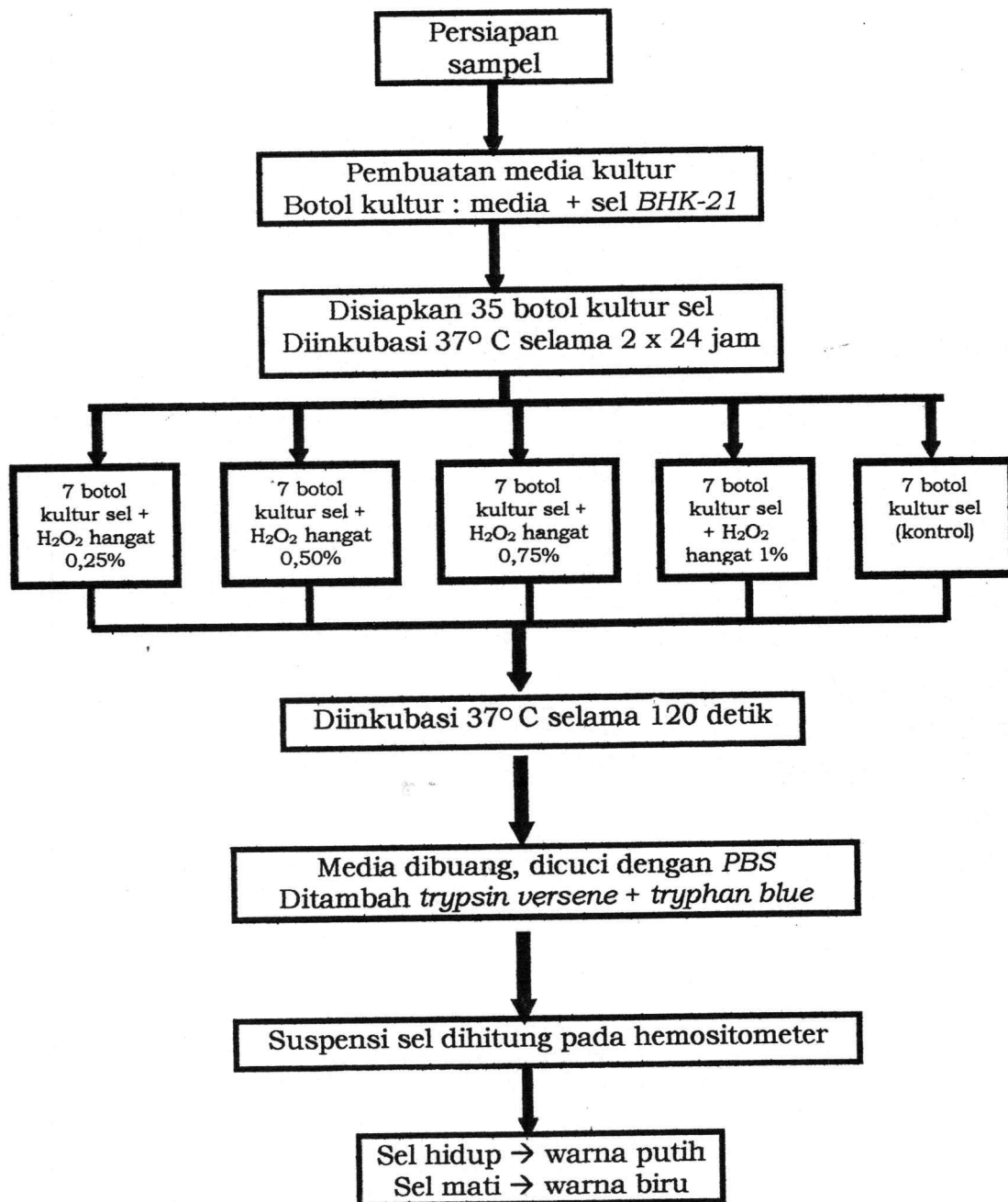
4.12 Alur Penelitian

4.12.1 Uji Biokompatibilitas Hidrogen Peroksida



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

4.12.2 Uji Biokompatibilitas Hidrogen Peroksida Hangat



BAB 5**ANALISIS HASIL PENELITIAN****5.1 Data Penelitian**

Dari hasil pengamatan dan perhitungan yang telah dilakukan diperoleh data penelitian sebagai berikut.

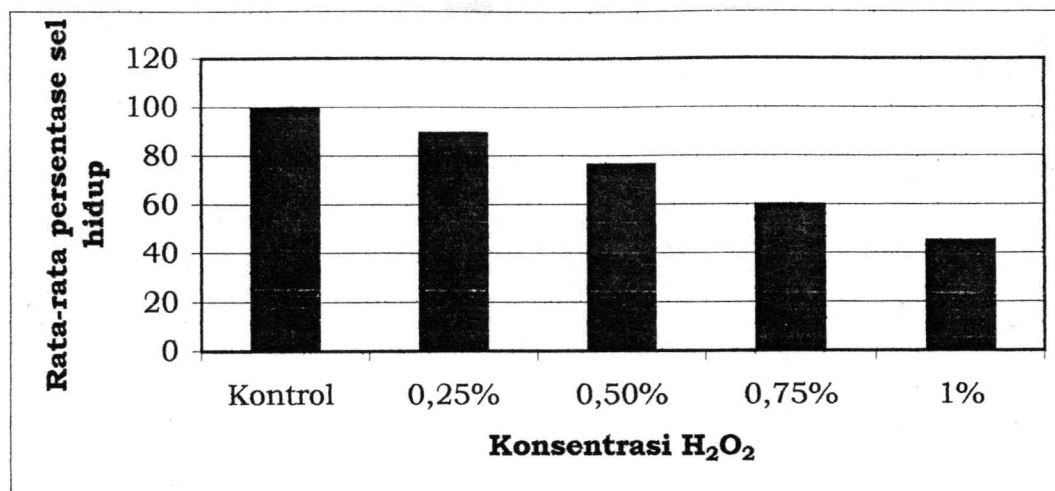
5.1.1 Persentase Sel Hidup Setelah Pemberian H₂O₂ 0,25% - 1%

Hasil perhitungan rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ dengan konsentrasi 0,25% - 1% selama 120 detik terlihat pada tabel 5.1 dan gambar 5.1.

Tabel 5.1 : Nilai rata-rata dan simpangan baku persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ 0,25% - 1%

Kelompok	N	Rata-rata	Simpangan Baku
Kontrol	7	99,53	0,52
H ₂ O ₂ 0,25%	7	89,26	0,47
0,50%	7	76,33	1,22
0,75%	7	59,56	0,92
1%	7	44,87	2,84

Berdasarkan tabel 5.1 dan gambar 5.1 terlihat bahwa rata-rata persentase sel hidup terendah pada kelompok H₂O₂ 1% (44,87% ± 2,84), sedang yang tertinggi pada kelompok H₂O₂ 0,25% (89,26% ± 0,47)



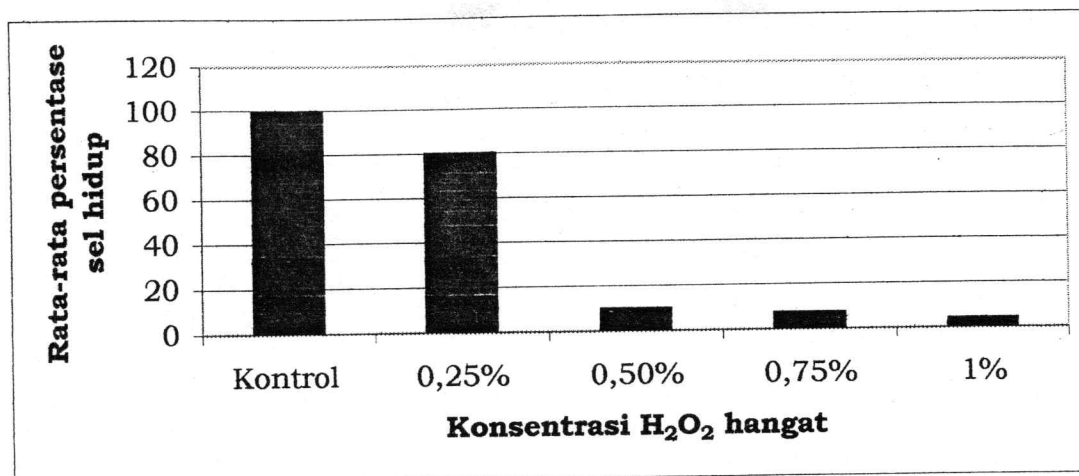
Gambar 5.1 : Diagram batang rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ 0,25% - 1%

5.1.2 Persentase Sel Hidup Setelah Pemberian H₂O₂ Hangat 0,25% - 1%

Untuk hasil perhitungan rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ hangat dengan konsentrasi 0,25% - 1% selama 120 detik dapat dilihat pada tabel 5.2 dan gambar 5.2.

Tabel 5.2 : Nilai rata-rata dan simpangan baku persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ hangat 0,25% - 1%

Kelompok	N	Rata-rata	Simpangan Baku
Kontrol	7	99,57	0,39
H ₂ O ₂ hangat 0,25%	7	79,89	0,47
0,50%	7	9,79	1,22
0,75%	7	7,31	0,92
1%	7	4,09	2,84



Gambar 5.2 : Diagram batang rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ hangat 0,25% - 1%

Tabel 5.2 dan gambar 5.2 menunjukkan bahwa rata-rata persentase sel hidup terendah setelah pemberian H₂O₂ hangat 1% ($4,09\% \pm 0,65$) dan tertinggi pada kelompok H₂O₂ 0,25% ($79,89\% \pm 0,47$).

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian Uji Biokompatibilitas H₂O₂ dan H₂O₂ Hangat

Berdasarkan data penelitian yang tersaji dalam lampiran 1, dilakukan uji normalitas data hasil penelitian dengan menggunakan *Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test*. Dari hasil uji tersebut diketahui bahwa data persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ (0,25% - 1%) dan H₂O₂ hangat (0,25% - 1%) mempunyai distribusi normal (lampiran 2).

Untuk mengetahui adanya perbedaan persentase sel hidup setelah pemberian H₂O₂ dengan konsentrasi 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1% selama 120 detik dilakukan uji Analisis Varians satu arah (hasil perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3). Dari uji statistik ini

didapatkan $p = 0,000$ (tabel 5.3), yang berarti ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara pemberian H_2O_2 dengan berbagai konsentrasi (0,25% - 1%) terhadap rata-rata persentase sel hidup.

Tabel 5.3 : Hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 0,25% - 1% dengan uji Analisis Varians satu arah

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7885,207	3	2628,402	986,84	0,000
Within Groups	63,923	24	2,663		
Total	7949,130	27			

Hasil uji Analisis Varians satu arah yang dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat dengan konsentrasi 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1% selama 120 detik memperoleh $p = 0,000$ (tabel 5.4). Ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara pemberian H_2O_2 hangat dengan berbagai konsentrasi (0,25% - 1%) terhadap rata-rata persentase sel hidup.

Tabel 5.4 : Hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% - 1% dengan uji Analisis Varians satu arah

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27956,747	3	9318,916	17986,9	0,000
Within Groups	12,434	24	0,518		
Total	27969,181	27			

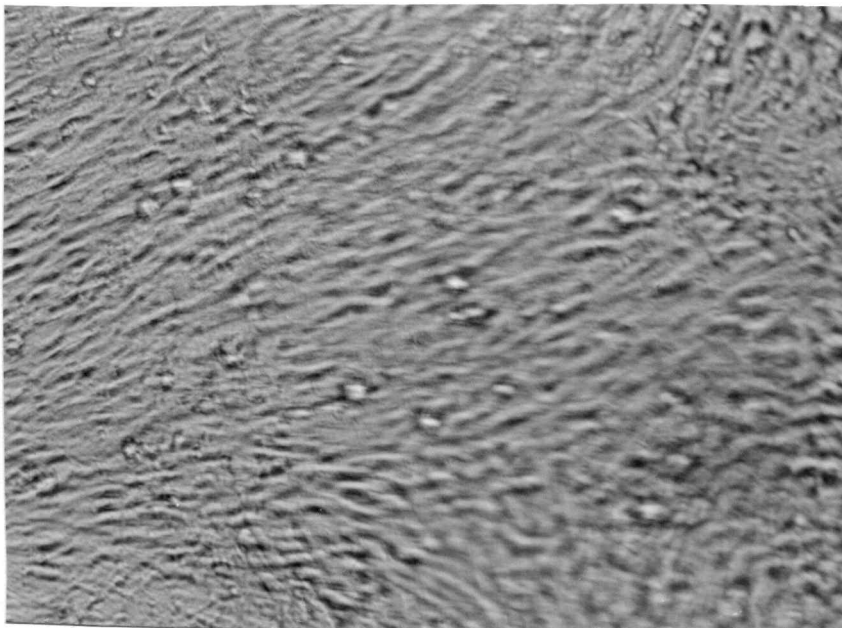
Uji *independent-t* dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 (0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%) dan H_2O_2 hangat (0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%) selama 120 detik (lampiran 4). Hasil yang diperoleh adalah $p = 0,000$; artinya ada perbedaan yang

bermakna ($p < 0,05$) antara rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 dengan rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat pada masing-masing konsentrasi (tabel 5.5).

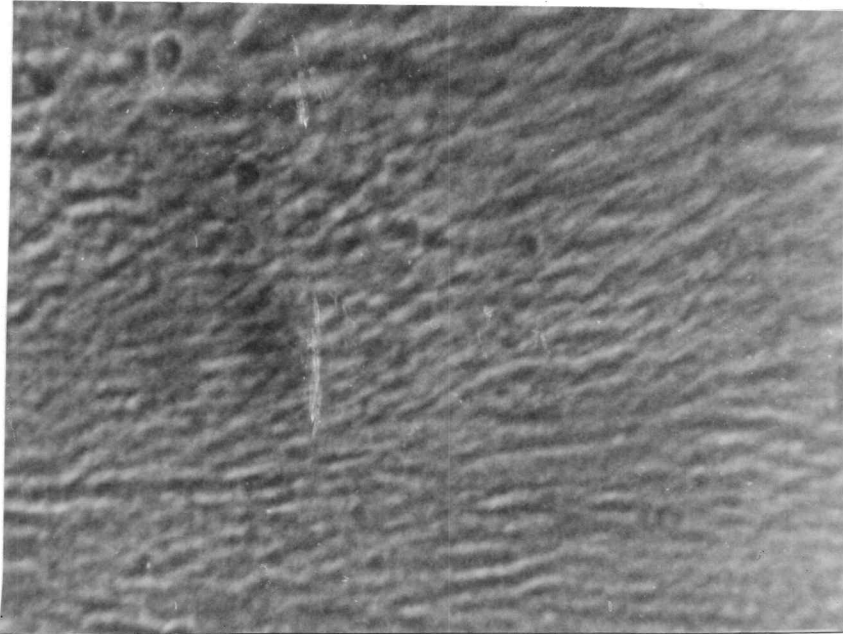
Tabel 5.5 : Hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 dan H_2O_2 hangat dengan uji *independent-t*.

No	Konsentrasi H_2O_2	$\bar{x} + SD$	Konsentrasi H_2O_2 hangat	$\bar{x} + SD$	p
1	0,25%	89,26 \pm 0,47	0,25%	79,89 \pm 0,47	0,000
2	0,50%	76,33 \pm 1,22	0,50%	9,79 \pm 1,22	0,000
3	0,75%	59,56 \pm 0,92	0,75%	7,31 \pm 0,92	0,000
4	1%	44,87 \pm 2,84	1%	4,09 \pm 2,84	0,000

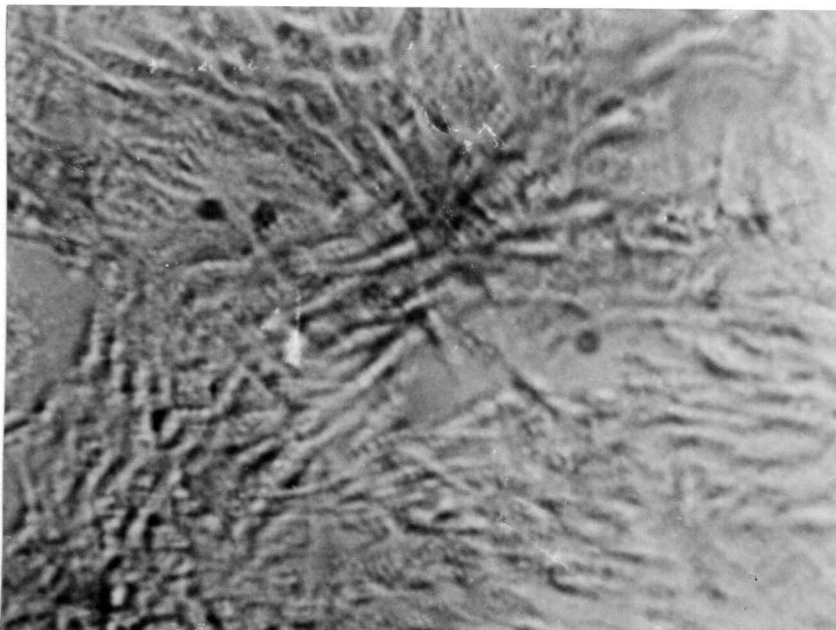
Keterangan : $p < 0,05 \rightarrow$ berbeda bermakna



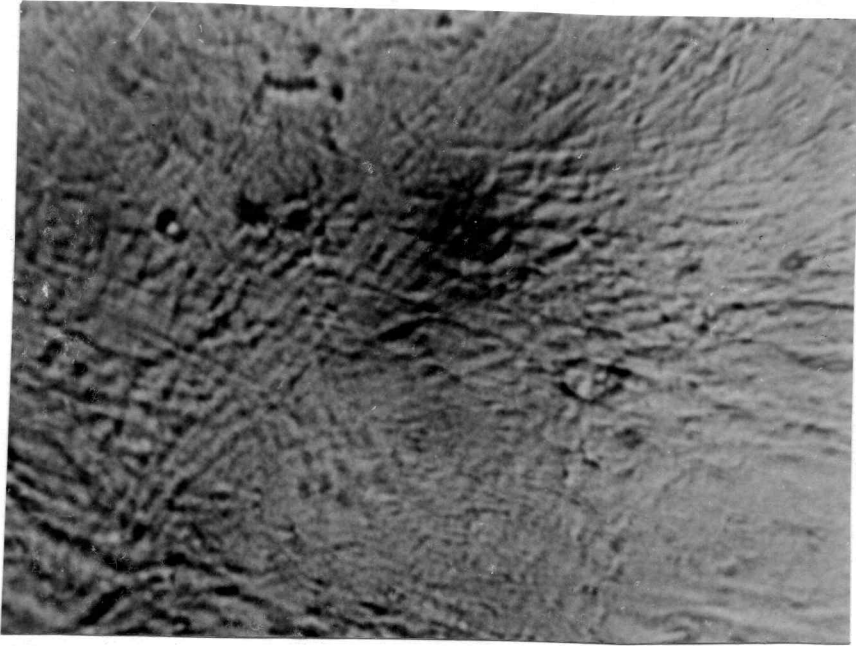
Gambar 5.3 : Gambaran mikroskopis sel BHK - 21 (kontrol) dengan mikroskop cahaya (100 x)



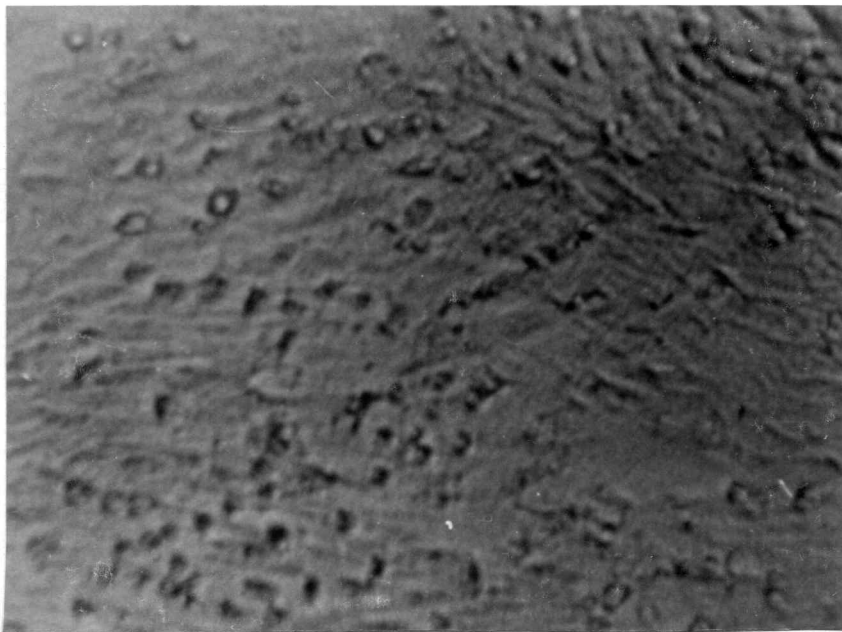
Gambar 5.4 : Gambaran mikroskopis sel *BHK - 21* setelah pemberian H_2O_2 0,25% dengan mikroskop cahaya (100 x)



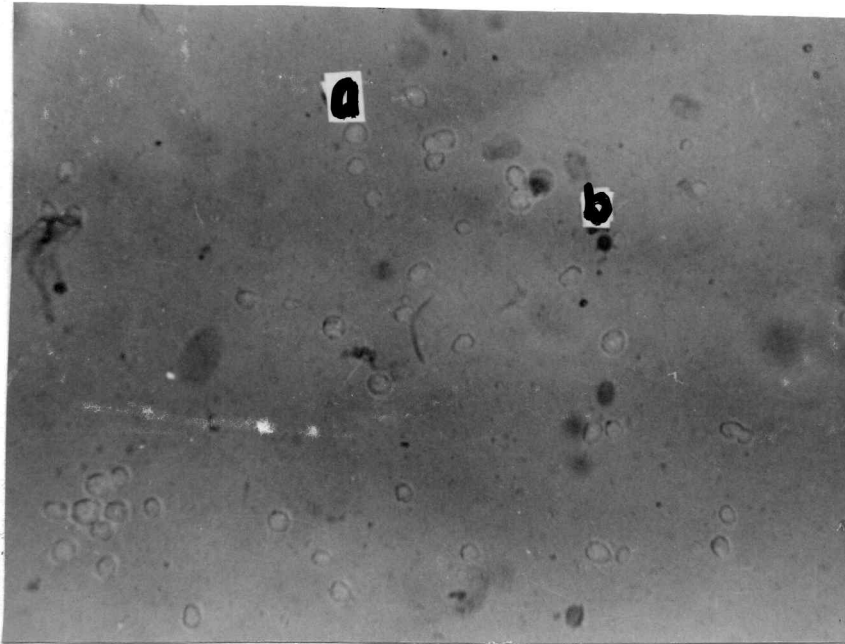
Gambar 5.5 : Gambaran mikroskopis sel *BHK - 21* setelah pemberian H_2O_2 1% dengan mikroskop cahaya (100 x)



Gambar 5.6 : Gambaran mikroskopis sel *BHK - 21* setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% dengan mikroskop cahaya (100 x)



Gambar 5.7 : Gambaran mikroskopis sel *BHK - 21* setelah pemberian H_2O_2 hangat 1% dengan mikroskop cahaya (100 x)



Gambar 5.8 : Gambaran mikroskopis sel hidup (a) dan sel mati (b) pada hemositometer dengan mikroskop cahaya (100 x)

BAB 6

PEMBAHASAN

Pengujian biokompatibilitas hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat dengan menggunakan metode kultur sel merupakan alternatif eksperimen terhadap hewan yang memiliki kekurangan seperti biaya yang lebih mahal, ada beberapa variabel yang tidak terkontrol dan menimbulkan kontroversi (Levebre & Schuster, 1994).

Pada penelitian ini dilakukan uji biokompatibilitas hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat terhadap sel fibroblas. Sel fibroblas yang digunakan berasal dari *Baby Hamster Kidney (BHK - 21)* dengan alasan bahwa ginjal hanya mengandung sedikit jaringan ikat, dimana jaringan ikat makin sedikit maka pertumbuhan semakin baik. Disamping itu jaringan yang lebih muda lebih baik daripada jaringan tua dan jaringan embrional akan tumbuh lebih baik dibandingkan dengan jaringan dari organ (Freshney, 1987).

Secara morfologis hasil kultur sel *BHK-21* menunjukkan sel-sel *monolayer* berbentuk *spindle* berikatan satu dengan lainnya yang terlihat seperti jaringan (gambar 5.3). Ikatan tersebut akan rusak bila ada gangguan dalam pertumbuhannya (gambar 5.4, 5.5, 5.6 dan 5.7). Tetapi perubahan morfologi ini bersifat subyektif. Oleh karena itu agar hasil penelitian dapat diukur maka dipakai metode pengujian yang sederhana dan relatif mudah dilakukan yaitu metode *die exclusion test*. Dengan metode ini dapat diketahui perbedaan sel hidup dan sel mati yang ditandai dengan

masuknya *tryphan blue* ke dalam sel. Sel yang hidup berbentuk bundar dan berwarna terang, sedangkan sel yang mati membesar dan berwarna biru sebelum akhirnya pecah (Freshney, 1987) seperti terlihat pada gambar 5.8.

Pada penelitian ini lama waktu kontak antara hidrogen peroksida maupun hidrogen peroksida hangat dengan kultur sel adalah 120 detik dengan pertimbangan bahwa lama waktu untuk berkumur secara maksimal adalah 120 detik (Supiaty, 1998).

Dari hasil penelitian pendahuluan didapatkan bahwa hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat pada konsentrasi 1,5% - 3% menyebabkan kematian seluruh sel fibroblas, oleh karena itu pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0,25% - 1%.

Hasil uji Analisis Varians satu arah pada tabel 5.3 menunjukkan perbedaan biokompatibilitas yang bermakna setelah pemberian hidrogen peroksida dengan konsentrasi 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%. Pada pemberian H_2O_2 0,25% rata-rata persentase sel hidup adalah 89,26% ($\pm 0,047$), sedangkan pada konsentrasi 1% rata-rata persentase sel hidup menurun yaitu 44,87% ($\pm 2,84$). Artinya semakin tinggi konsentrasi hidrogen peroksida maka semakin besar pula toksisitasnya terhadap sel.

Demikian pula dengan hasil uji Analisis Varians satu arah yang terlihat pada tabel 5.4. Terdapat perbedaan biokompatibilitas yang bermakna antara hidrogen peroksida hangat 0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%. Rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% adalah 79,89% ($\pm 0,99$) dan rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 1% adalah 4,09% ($\pm 0,65$). Seperti halnya pada

pemberian hidrogen peroksida, dapat disimpulkan bahwa makin tinggi konsentrasi hidrogen peroksida hangat makin besar pula toksisitasnya terhadap sel.

Pengaruh konsentrasi terhadap biokompatibilitas terlihat pada hasil penelitian ini, dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar pula sitotoksitasnya. Menurut Paracelcus (1493 – 1541), semua substansi adalah racun, tidak ada yang tidak racun. Dosis yang tepat membedakan racun atau obat. Konsentrasi merupakan istilah lain dari dosis yang dipakai untuk substansi dalam bentuk larutan. Hal ini menunjukkan hubungan yang erat antara konsentrasi suatu bahan dengan toksisitasnya (Timbrell, 1994).

Menurut Mansson *et al.* (1990), jika hidrogen peroksida kontak dengan jaringan maka enzim peroksidase atau katalase yang terdapat pada jaringan akan memecahnya menjadi air dan oksigen bebas. Oksigen sebagai salah satu radikal bebas mempunyai peranan dalam terjadinya jejas atau kematian sel. Ada tiga reaksi dari bahan reaktif ini yang diperkirakan paling berhubungan dengan kematian sel.

Reaksi pertama adalah peroksidasi lemak membran. Ikatan rangkap pada asam lemak tak jenuh dari lemak membran mudah diserang oleh oksigen turunan radikal bebas terutama gugus hidroksil. Interaksi radikal-lemak ini menyebabkan reaksi autokatalisis rantai sehingga memperluas kerusakan membran, organel dan sel (Robbins *et al.*, 1994).

Reaksi kedua yaitu terjadinya perubahan protein dan enzim akibat oksidasi. Pada protein, radikal bebas menambah ikatan silang perantara

sulfhidril dari asam amino yang labil seperti histidin dan menyebabkan pemecahan rantai polipeptida (Robbins *et al.*, 1994). Pada enzim, bahan reaktif ini dapat mengoksidasi enzim *glutathione (GSH)* yang berperan melindungi sel. Penurunan *GSH* menyebabkan oksidasi lanjutan dan reaksi silang sehingga terjadi perubahan protein yang merupakan bagian terpenting dari mekanisme jejas sel (Timbrell, 1994).

Reaksi yang ketiga adalah adanya lesi pada asam deoksiribonukleat (ADN). Reaksi logam yang reaktif dengan ADN misalnya *thymine* dapat menyebabkan kerusakan ADN yang terlibat dalam kematian sel (Robbins *et al.*, 1994).

Tabel 5.5 yang merupakan hasil uji beda rata-rata persentase sel hidup setelah pemberian hidrogen peroksida dan hidrogen peroksida hangat dengan menggunakan uji *independent-t* menunjukkan perbedaan biokompatibilitas yang bermakna pada masing-masing konsentrasi (0,25%; 0,50%; 0,75% dan 1%). Ternyata hidrogen peroksida lebih biokompatibel dibandingkan hidrogen peroksida hangat dalam konsentrasi yang sama. Hal ini dapat disebabkan karena panas pada hidrogen peroksida hangat akan meningkatkan dekomposisi (Reynolds, 1993) sehingga oksigen yang terbentuk juga akan meningkat. Akibat selanjutnya terjadi peningkatan kematian sel.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Hidrogen peroksida 0,25% lebih biokompatibel dibandingkan hidrogen peroksida hangat 0,25%.

7.2 Saran

- a. Walaupun hasil penelitian ini sudah cukup memadai, sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut sesuai dengan kaidah-kaidah pemakaian obat yang rasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Anusavice JK, 1996, Philip's Science of Dental Material. Philadelphia : WB Saunders Co, pp : 75 – 85.
- Binney A, Addy M, Newcombe RG, 1992. The Effect of a Number of Commercial Mouthrinses Compared with Toothpaste on Plaque Regrowth. *J Periodontol* 63 : 849 – 852.
- Bird BR, Forrester FT, 1981. Basic Laboratory Techniques in Cell Culture. US Department of Health and Human Service, Public Health Service, Centers of Disease Control, pp : 33 – 4.
- Boyd RI, 1989. Effects of Gingivitis of Daily Rinsing with 1,5% H₂O₂. *J Clin Periodontol* 16 : 557 – 562.
- British National Formulary, 1989. British Medical Association & The Pharmaceutical Society of Great Britain 13 : 296 – 297.
- British Pharmacopoeia, 1993. Volume 1. London : HMSO, p : 336.
- Carranza FA, 1996. Glickman's Clinical Periodontology, 8th edition, Philadelphia : WB Saunders Company.
- Carranza FA, Newman MG, 1996. Clinical Periondotology, 5th edition, Philadelphia : WB Saunders Company.
- Chasteen JE, 1984. Essentials of Clinical Dental Assisting, 3rd edition, Princeton : The CV Mosby Co, pp : 373 – 5.
- Daliemunthe SH, 1998. Obat Kumur dan Kesehatan Periodonsium. *Majalah Kedokteran Gigi USU* 4 : 17 – 23.
- Effendy R, 1993. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Resin Komposit Terhadap Sifat Kimia, Fisik, Mekanik dan Biokompatibilitas. Disertasi, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Farmakope Indonesia, 1995. Edisi ke-4, Jakarta : Departemen Kesehatan RI, hal : 11.
- Freshney RI, 1987. Culture of Animal Cell, 2nd edition, New York : Alan R Liss Inc, pp 1 – 13.
- Goodman IS, Gilman AG, Rall TW, Murad F, eds, 1985. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Theurapeutics, 7th edition, New York : Macullan Publishing Company.

- Grossman LI, Oliet S, Del Rio CE, 1995. Ilmu Endodontik dalam Praktek (diterjemahkan Abyono R), edisi ke-11, Jakarta : EGC, hal : 47 – 8, 59, 205 – 11.
- Harvey SC, 1985. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Theurapeutics, 7th edition. New York : Macullan Publishing Company, p : 968.
- Hasanuddin, 1991. Pengaruh Hidrogen Peroksida Dengan Konsentrasi 1,5% - 3% terhadap Jaringan Lunak dan Bakteri Plak. Tesis, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Jawetz E, 1987. Disinfectants and Antiseptic. In A Lange Medical Book Basic and Clinical Pharmacology, 3rd edition, Mexico : Prentice Hall International Inc, pp : 602 – 3.
- Kamadjaja MJK, 1997. Pengaruh Kadar Formaldehid dari Bahan Perekat Gigi Tiruan terhadap Biokompatibilitasnya. Tesis, Program Pascasarjana, Univesitas Airlangga, Surabaya.
- Katzung BG, 1987. A Lange Medical Book Basic and Clinical Pharmacology, 3rd edition, Mexico : Prentice Hall International Inc.
- Levine JM, Edgerton M, 1993. Biocompatibility : Its Future in Prosthodontic Research. J Prost Dent 69 : 406 – 414.
- Lefebvre CA, Schuster GS, 1994. Biocompatibility of Visible Light Cured Resin Systems in Prosthodontics. J Prosthet Dent 2 : 178 – 85.
- Manson JD, Eley BM, 1993. Buku Ajar Periodonti (diterjemahkan Anastasia), edisi ke-3, Jakarta : Hipocrates.
- Mansson, Rahemtulla B, Rahemtulla F, Humpreys, Beher MG, 1990. Human Salivary. J Dent Res 69 : 1839 – 1846.
- Mc Cabe JF, 1990. Applied Dental Material. London : Blackwell Scientific Publication, p : 26.
- Mc Phee T, Cowley G, 1981. Essentials of Peridontology, 3rd edition, Oxford : Blackwell Scientific Publication, p : 157.
- Miyasaki KT, 1984. Resistance of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and Differential Susceptibility of Oral *Haemophilus sp* to the Bactericidal Effects of Hydrogen Peroxide. Infection and Immunity 46 : 644 – 648.
- Miyasaki KT, 1986. Antimicrobial Properties of Hydrogen Peroxide and Sodiumbicarbonate Individually and in Combination Againts Selected Oral Gram Negative Facultative Bacteria. J Dent Res 65 : 1142 – 1148.

- Molinari JA, 1990. Sterilization and Disinfectant. In Oral Microbiology and Infectious Diseases, 3rd edition. Philadelphia : BC Decker Inc, pp : 153 – 175.
- Moore JR, 1985. Surgery of The Mouth and Jaws. London : Blackwell Scientific Publication, pp : 213 – 333.
- Rees TD, Orth CF. 1986. Oral Ulceration with Use of Hydrogen Peroxide. J Periodontol 57 : 689 – 692.
- Reynolds JEF, 1993. Martindale The Extra Pharmacopoeia. 13th edition, London : The Pharmaceutical Press, p : 798.
- Rich SA, 1980. Longitudinal Effects of on Oxygenating Agent on Clinical Indices and Oral Microbiota. Clin Prev Dent 2 : 13 – 17.
- Robbins SL, Kumar VK, Coltran RS, 1994. Pathologic Basis of Disease, 5th edition, Tokyo : WB Saunders Co, p : 2.
- Schlegel HG, Schmidt K, 1994. Mikrobiologi Umum (diterjemahkan Baskoro T), edisi ke-6, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press, hal : 234 – 40.
- Siswandono, Soekardjo B, 1995. Kimia Medisinal, edisi ke-1, Surabaya : Airlangga University Press, hal : 247 – 8.
- Steel EE, Toorie JH, 1981. Principle and Procedure of Statistics, 2nd edition, Tokyo : Mc. Graw-Hill International Book Co, pp : 116 – 20.
- Supiaty, 1998. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Pemberian Chlorhexidine Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Kuman *Streptococcus sanguis*. Tesis, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sweet JB, Macynski AA, 1985. Effect of Antimicrobial Mouthrinses on the Incidence of Localized Alveolitis an Infection Following Mandibular Third Molar. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 59 : 24 – 46.
- Tetsch P, Wagner W, 1985. Operative Extraction of Wisdom Teeth. London : Wolfe Medical Publication Ltd, pp : 90, 111 – 2, 127 – 8.
- Timbrell JA, 1994. Principles of Biochemical Toxicology, 2nd edition, London : Taylor & Francis Ltd, pp : 33, 35, 216 – 7.
- Weitzman SA, Weitberg AB, Stossel TP, Schwartz J, Skhlar G, 1986. Effects of Hydrogen Peroxide on Oral Carcinogenesis in Hamsters. J Periodontol 57 : 685 – 688.

Williams, Wilkins, 1987. Webster's New World Stedman's Medical Dictionary, New York : Prentice Hall, pp : 184, 762.

Lampiran 1 :Data persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 0,25% - 1%

No. sampel	KELOMPOK				
	Kontrol	H_2O_2			
		0,25%	0,50%	0,75%	1%
1	100,0	88,8	76,4	59,1	39,8
2	100,0	89,4	75,6	59,8	47,7
3	99,6	89,5	78,3	58,3	46,5
4	98,8	88,7	76,5	60,2	45,8
5	98,9	88,9	77,4	61,1	44,4
6	99,4	89,5	75,3	59,5	47,3
7	100,0	90,0	74,8	58,9	42,6

Data persentase sel hidup setelah pemberian H_2O_2 hangat 0,25% - 1%

No. sampel	KELOMPOK				
	Kontrol	H_2O_2 Hangat			
		0,25%	0,50%	0,75%	1%
1	99,7	78,9	9,9	7,9	4,2
2	100,0	80,1	10,2	7,6	4,5
3	99,5	79,8	9,5	6,8	3,9
4	99,3	80,3	9,4	7,4	3,7
5	100,0	81,1	10,8	8,0	4,8
6	98,9	78,3	8,9	6,8	2,9
7	99,6	80,7	9,8	6,7	4,6

Lampiran 2 : Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov Test

One Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Kelompok H ₂ O ₂		0,25%	0,50%	0,75%	1%
N		7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	89,2571	76,3286	59,5571	44,8714
	Standard Deviation	0,4721	1,2244	0,9199	2,8435
Most Extreme Differences	Absolute	0,204	0,159	0,119	0,199
	Positive	0,204	0,159	0,119	0,16
	Negative	-0,190	-0,106	-0,096	-0,199
Kolmogorov-Smirnov Z		0,539	0,420	0,315	0,528
Asymp. Sig. (2-tailed)		0,933	0,995	1,000	0,943

a. Test distribution is normal

b. Calculated from data

One Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Kelompok H₂O₂ Hangat

	0,25%	0,50%	0,75%	1%
N	7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}				
Mean	89,2571	76,3286	59,5571	44,8714
Standard Deviation	0,4721	1,2244	0,9199	2,8435
Most Extreme Differences				
Absolute	0,204	0,159	0,119	0,199
Positive	0,204	0,159	0,119	0,16
Negative	-0,190	-0,106	-0,096	-0,199
Kolmogorov-Smirnov Z	0,539	0,420	0,315	0,528
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,933	0,995	1,000	0,943

a. Test distribution is normal

b. Calculated from data

Lampiran 3 : Uji Analisis Varians satu arah

Oneway

Descriptives

Kelompok H ₂ O ₂	Descriptives					Total
	0,25%	0,50%	0,75%	1%	7	
N	7	7	7	7	7	28
Mean	89,2571	76,3286	59,5571	44,8714	44,8714	67,5036
Standard Deviation	0,4721	1,2244	0,9199	2,8435	2,8435	17,1584
Standard Error	0,1784	0,4628	0,3477	1,0748	1,0748	3,2426
95% Confidence Interval for Mean	88,8205	75,1962	58,7046	42,2416	42,2416	60,8502
Lower Bound	89,6937	77,4609	60,4079	47,5013	47,5013	74,1569
Upper Bound	88,70	74,80	58,30	39,80	39,80	39,80
Minimum	90,00	78,30	61,10	47,70	47,70	90,00
Maximum						

ANOVA

Kelompok H ₂ O ₂	ANOVA				
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7885,207	3	2628,402	986,84	0,000
Within Groups	63,923	24	2,663		
Total	7949,130	27			

Oneway

Descriptives

Kelompok H₂O₂ Hangat

	0,25%	0,50%	0,75%	1%	Total
N	7	7	7	7	28
Mean	79,8857	9,7857	7,3143	4,0857	25,2679
Standard Deviation	0,9873	0,6094	0,549	0,6517	32,1853
Standard Error	0,3732	0,2304	0,2075	0,2463	6,0825
95% Confidence Interval for Mean	78,9726	9,2221	6,8065	3,483	12,7877
Lower Bound	80,7988	10,3494	7,822	4,6885	37,748
Upper Bound	78,30	8,90	6,70	2,90	2,90
Minimum	81,10	10,80	8,00	4,80	81,10
Maximum					

ANOVA

Kelompok H₂O₂ Hangat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27956,747	3	9318,916	17986,9	0,000
Within Groups	12,434	24	0,518		
Total	27969,181	27			

Lampiran 4 : Uji Independent-t

t-test

Group Statistics

	VAR00005	N	Mean	Standard Deviation	Standard Error Mean
0,25%	H ₂ O ₂	7	89,257	0,4721	0,1784
	H ₂ O ₂ Hangat	7	79,886	0,9873	0,3732

Independent Samples Test

		0,25%	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of Variances	F	2,729	
	Sig.	0,124	
t-test for Equality of Means	t	22,657	22,657
	df	12	8,607
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000
	Mean Difference	9,3714	9,3714
	Std. Error Difference	0,4136	0,4136
	95% Confidence Interval of the Difference	8,4702	8,4292
		10,2726	10,3137

t-test

Group Statistics

	VAR00005	N	Mean	Standard Deviation	Standard Error Mean
0,50%	H ₂ O ₂	7	76,3286	1,2244	0,4628
	H ₂ O ₂ Hangat	7	9,7857	0,6094	0,2304

Independent Samples Test

		0,50%	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of Variances	F	2,793	
	Sig.	0,121	
t-test for Equality of Means	t	128,728	128,728
	df	12	8,801
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000
	Mean Difference	66,5429	66,5429
	Std. Error Difference	0,5169	0,5169
	95% Confidence Interval of the Difference	65,4166	65,3695
		67,6691	67,7163

t-test

Group Statistics

	VAR00005	N	Mean	Standard Deviation	Standard Error Mean
0,75%	H ₂ O ₂	7	59,5571	0,9199	0,3477
	H ₂ O ₂ Hangat	7	7,3143	0,5490	0,2075

Independent Samples Test

		0,75%	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of variances	F	1,073	
	Sig.	0,321	
t-test for Equality of Means	t	129,026	129,026
	df	12	9,793
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000
	Mean Difference	52,2429	52,2429
	Std. Error Difference	0,4049	0,4049
	95% Confidence Interval of the Difference	51,3607	51,3381
		53,1251	53,1476

t-test

Group Statistics

	VAR00005	N	Mean	Standard Deviation	Standard Error Mean
1,00%	H ₂ O ₂	7	44,8714	2,8435	1,0748
	H ₂ O ₂ Hangat	7	4,0857	0,6517	0,2463

Independent Samples Test

		1,00%	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of variances	F	8,732	
	Sig.	0,12	
t-test for Equality of Means	t	36,990	36,990
	df	12	6,629
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000
	Mean Difference	40,7857	40,7857
	Std. Error Difference	1,1026	1,1026
	95% Confidence Interval of the Difference	38,3833	38,1485
		43,1881	43,4229