

- STERILIZATION
- TOXICITY TEST
- TOOTH EXTRACTION

**UJI TOKSISITAS LESSION STERILIZATION and
TISSUE REPAIR (3MIX-MP)
TERHADAP KULTUR SEL FIBROBLAS**

SKRIPSI

62 07

4/07

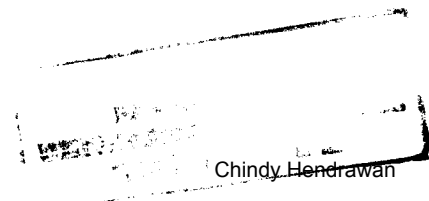
17



Oleh :

CHINDY HENDRAWAN
020313189

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**



LEMBAR PENGESAHAN

**UJI TOKSISITAS LESSION STERILIZATION and
TISSUE REPAIR (3MIX-MP)
TERHADAP KULTUR SEL FIBROBLAS**

SKRIPSI

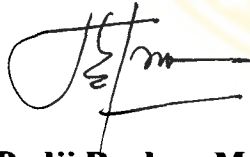
**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh :

CHINDY HENDRAWAN
020313189

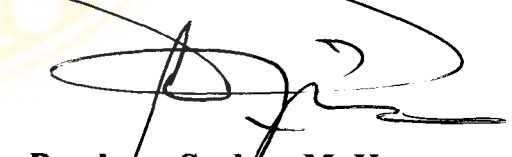
Mengetahui / Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. A. Retno Pudji R., drg., M. Kes
NIP. 131569391

Pembimbing II



Bambang S., drg., M. Kes
NIP. 131459653

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa sebab hanya atas karunia yang dilimpahkanNya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul *Uji Toksisitas Lesion Sterilization and Tissue Repair (3MIX-MP) Terhadap Kultur Sel Fibroblas*.

Pelaksanaan penelitian ini tidak lepas dari dukungan dan peran serta semua pihak. Untuk itu dengan segala ketulusan hati, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga beserta segenap Pembantu Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi ijin dalam pelaksanaan penelitian skripsi ini.
2. Markus Budi Rahardjo, drg., M. Kes selaku kepala Laboratorium Biologi Oral yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menempuh skripsi dalam bidang Biologi Oral.
3. Dr. Retno Pudji, drg, M. Kes selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktunya dan membimbing skripsi saya.
4. Bambang S., drg, M. Kes selaku pembimbing kedua yang menuntun saya dalam penyelesaian skripsi saya.
5. Hendrik, drg, M. Kes yang telah membantu saya pembuatan statistik dalam skripsi saya.
6. Dr. Joko Agus Purwanto yang telah banyak membantu saya dalam bidang farmasi untuk penelitian dalam skripsi saya.
7. Endhang Pudjiastuti, drh., selaku Kepala Laboratorium di Pusat Veterinaria Farma yang telah menerima saya untuk melakukan penelitian.
8. Ernawati Yulia, drh., dan Indah Mukti Rahayu yang telah membantu penelitian saya sehingga dapat diperoleh hasil penelitian yang baik.
9. Tim penguji proposal dan skripsi yang telah memberikan masukan-masukan yang sangat berarti demi kesempurnaan skripsi ini.

10. Kedua orangtua dan adik saya Evelyn yang telah memberikan dukungan, semangat dan doa yang sangat berarti, sehingga dapat selesai skripsi saya ini.
11. Kakak-kakak kelas yang telah membantu memberi masukan-masukan dan membantu dalam pembuatan skripsi saya.
12. Teman-teman seperjuangan, Yuana, Sysca, Anik, Jesslyn, Eric, Yonnathan, Seley, Ira, Vina, Vincent, Budi, Jenadi, Agus yang telah mendukung saya sepenuhnya dalam pelaksanaan penelitian skripsi saya.
13. Teman-teman ku yang lainnya, Dedrick Moejiharta, ST., David, Amelia, Cute, Ricky.
14. Pak Sam dan Bu Yuli sebagai sekretaris bidang Biologi Oral yang telah banyak membantu saya.
15. Semua pihak yang ikut membantu dalam penyusunan skripsi ini, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Surabaya, Juli 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Terapi LSTR (3MIX-MP)	5
2.2 Metronidazol	5
2.2.1 Farmakologis Metronidazol	6
2.2.2 Toksisitas Metronidazol	7
2.3 Sipprofloksasin	7
2.3.1 Farmakologis Sipprofloksasin	8
2.3.2 Toksisitas Sipprofloksasin	8
2.4 Minosiklin	9
2.4.1 Farmakologis Minosiklin	10
2.4.2 Toksisitas Minosiklin	10
2.5 Uji Toksisitas	11
2.6 Kultur Sel	12
2.6.1 Metode Kultur Sel	13
2.6.2 Sifat Pertumbuhan Kultur Sel	14

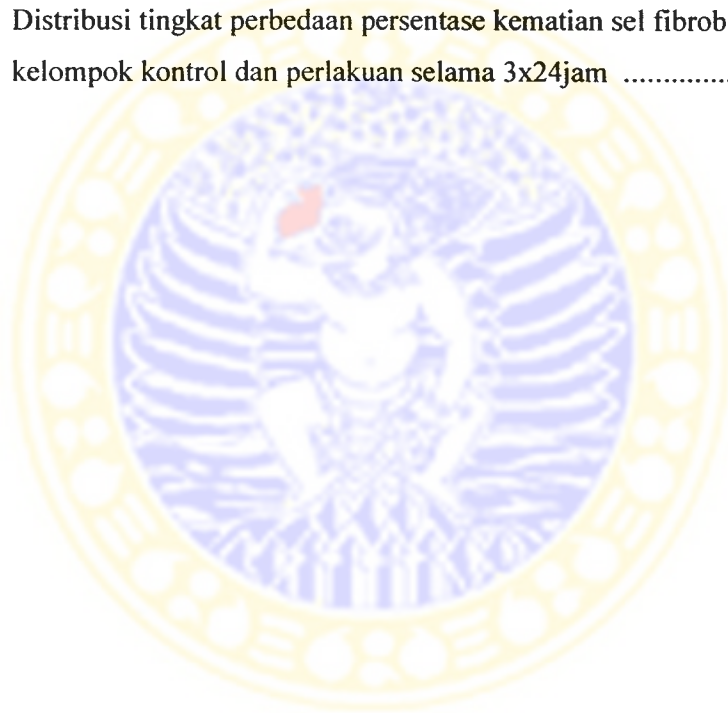
2.7 Sel Fibroblas	16
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	18
3.1 Bagan Kerangka Konsep	18
3.2 Hipotesis Penelitian	19
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	20
4.1 Jenis Penelitian	20
4.2 Obyek Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian	20
4.3 Variabel Penelitian	21
4.3.1 Variabel Bebas	21
4.3.2 Variabel Tergantung	21
4.3.3 Variabel Terkendali	21
4.4 Definisi Operasional	21
4.4.1 Pasta kombinasi metronidazol, minosiklin dan siprofloksasin ...	21
4.4.2 Derajat sitotoksitas	21
4.4.3 Sel fibroblas yang hidup	22
4.4.4 Sel fibroblas yang mati	22
4.4.5 Kultur sel	22
4.5 Alat dan Bahan	22
4.5.1 Alat yang digunakan	22
4.5.2 Bahan yang digunakan	23
4.6 Lokasi Penelitian	23
4.7 Prosedur Penelitian	24
4.7.1 Persiapan 3MIX-MP	24
4.7.2 Persiapan Kultur Sel	25
4.7.3 Perlakuan Kultur Sel	26
4.8 Alur Penelitian	28
4.9 Pengolahan Data dan Analisis Data	30
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	31
BAB 6 PEMBAHASAN	42

BAB 7 PENUTUP	47
7.1 Kesimpulan	47
7.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Distribusi rata-rata dan standar deviasi persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 1x24 jam	31
Tabel 5.2 Distribusi tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 1x24jam	33
Tabel 5.3 Distribusi rata-rata dan standar deviasi persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 3x24 jam	37
Tabel 5.4 Distribusi tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 3x24jam	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 5.1 Tingkat perbedaan rata-rata kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 1x24 jam	32
Gambar 5.2 Keadaan normal sel fibroblas sebelum dilakukan perlakuan	34
Gambar 5.3 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok kontrol selama 1x24 jam	35
Gambar 5.4 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan MP selama 1x24jam	35
Gambar 5.5 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 8 mg selama 1x24jam	35
Gambar 5.6 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 10 mg selama 1x24jam	36
Gambar 5.7 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 12 mg selama 1x24jam	36
Gambar 5.8 Tingkat perbedaan rata-rata kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 3x24 jam	37
Gambar 5.9 Grafik <i>Level Plot</i>	38
Gambar 5.10 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok kontrol selama 3x24jam	40
Gambar 5.11 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan MP selama 3x24jam	40
Gambar 5.12 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 8 mg selama 3x24jam	40
Gambar 5.13 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 10 mg selama 3x24jam	41
Gambar 5.14 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 12 mg selama 3x24jam	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Tabel hasil perlakuan	51
Lampiran 2 Hasil uji analisa statistik	52
Lampiran 3 Foto-foto dokumentasi peneliti	54



BAB 1

PENDAHULUAN

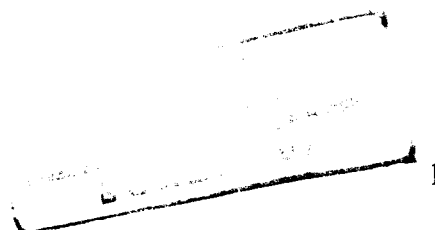
1.1 Latar Belakang

Saat ini unit Kariologi di Fakultas Kedokteran Gigi Nagata telah mengembangkan konsep terapi Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR) yang memakai campuran metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin (3mix) dan campuran bahan pembawa yaitu *macrogol* dan *propylene glycol* (MP), sehingga menjadi bentukan pasta yang berfungsi untuk desinfeksi lesi infeksius di rongga mulut, termasuk dentinal, pulpa dan lesi periapikal. Diharapkan penyembuhan jaringan yang terinfeksi dapat terjadi bila lesi didesinfeksi (Takushige dkk, 2004).

Metronidazol menjadi pilihan pertama, karena metronidazol terutama digunakan untuk amubiasis, trikomoniasis, infeksi bakteri anaerob dan memiliki spektrum bakterisidal yang luas.

Beberapa bakteri pada lesi periapikal ada yang resisten terhadap metronidazol, maka ditambahkan 2 obat anti bakteri yang lain, seperti siprofloksasin dan minosiklin. Siprofloksasin memiliki spektrum antibiotik yang luas dan dapat melawan kuman gram positif dan gram negatif. Minosiklin termasuk di dalam golongan tetrasiklin. Tetrasiklin memperlihatkan spektrum antibakteri luas yang meliputi kuman gram positif-negatif, aerob dan anaerob.

Bakteri pada *dental plaque*, *tongue plaque*, *denture plaque*, saliva, *periodontal pocket*, dan osteomyelitis banyak ditemukan bakteri anaerob, karena bakteri tersebut memungkinkan untuk permulaan terjadinya lesi endodontik (Hori et al.1999).



Campuran obat antibakterial tersebut dapat menghilangkan bakteri dari lesi, mengindikasikan bahwa terapi LSTR dapat bermanfaat untuk perawatan endodontik (Takushige, 2004).

Dari hasil uji *in vitro* dan *in vivo* menggambarkan bahwa campuran metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin (3mix) efektif melawan bakteri pada rongga mulut (Takushige & Hoshino, 2004).

Menurut penelitian yang dilakukan pada Dental klinik Takushige Sendai, Jepang, terapi LSTR (3MIX-MP) telah diuji pada 56 pasien yang berusia 4-18 tahun, terdapat 87 kasus gigi sulung yang terinfeksi, 46 kasus terdapat di mandibula dan 41 kasus pada maksila. Pada 87 kasus tersebut terdapat kasus dengan resorpsi akar fisiologis, gingival swelling/fistula dan resorpsi tulang alveolar.

Menurut hasil penelitian oleh Hoshino & Takushige bahwa terapi LSTR (3MIX-MP) dapat diberikan secara langsung, meskipun pada saluran akar yang tidak memungkinkan untuk dilakukan preparasi. Keuntungan pemberian secara langsung adalah obat dapat melekat pada epitel, bahan dilepaskan secara perlahan-lahan dan mempunyai stabilitas yang baik (Syahriel, 2004).

Sampai saat ini penjelasan tentang penggunaan terapi LSTR (3MIX-MP) masih belum jelas mekanisme dan efek toksisitasnya. Idealnya bahan kedokteran gigi yang diaplikasikan ke dalam rongga mulut harusnya tidak toksik, tidak iritasi, tidak karsinogenik dan tidak menyebabkan alergi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk menemukan dosis toksisitas yang optimal dari terapi LSTR tersebut terhadap kultur sel fibroblas.

Salah satu cara uji untuk menentukan efek toksik suatu bahan adalah uji toksisitas pada suatu jaringan. Uji sitotoksitas adalah bagian dari evaluasi bahan termasuk bahan kedokteran gigi yang diperlukan untuk prosedur *screening standard*. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Beberapa keuntungan kultur *cell lines*, yaitu papase dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan dan obat-obatan di bidang kedokteran gigi, antara lain *Baby Hamster Kidney 21* (BHK 21) yang berasal dari fibroblas ginjal bayi hamster.

Dipilihnya sel fibroblas karena fibroblas merupakan komponen terbesar pulpa, ligamen periodontal dan gingiva. Pada jaringan periodontal, fibroblas mensintesa kolagen dan matriks ekstraseluler yang berfungsi untuk memelihara ligamen periodontal yang sehat (Walton & Torabinejad, 1998). Pada penelitian David (2006) menggunakan dosis terapi LSTR sebesar 10 mg. Oleh karena itu, pada penelitian ini peneliti ingin meneliti toksisitas dari terapi LSTR dengan dosis 8 mg, 10 mg dan 12 mg.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang masalah di atas timbul suatu permasalahan yaitu:

Apakah terapi LSTR (3MIX-MP) memiliki efek toksik terhadap kultur sel fibroblas?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui dosis toksisitas dari terapi LSTR terhadap kultur sel fibroblas.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuat berbagai dosis dari terapi LSTR (3MIX-MP) antara lain 8 mg, 10 mg dan 12 mg.
2. Mencari dosis yang toksik dari berbagai dosis yang dipakai.
3. Menentukan sel yang mati akibat dari pemberian dosis yang toksik.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Dapat mengungkap mekanisme kematian sel fibroblas akibat pemberian terapi LSTR (3MIX-MP).

1.4.2 Manfaat praktis

Penelitian ini sebagai bahan alternatif lain dalam upaya menyembuhkan lesi periapikal.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Terapi LSTR (3MIX-MP)

Konsep terapi Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR) yang dikembangkan oleh unit Kariologi di Fakultas Kedokteran Gigi Nagata, Jepang menggunakan campuran obat anti bakteri untuk desinfeksi lesi infeksi oral termasuk dentin, pulpa dan lesi periapikal. Adanya beberapa bakteri yang resisten terhadap metronidazol maka dibuat poliantibiotik dengan merk 3MIX yang merupakan campuran obat antibakteri lainnya yaitu minosiklin dan siprofloksasin yang dikombinasikan dengan metronidazol sebagai usaha untuk mengeliminasi bakteri yang ada pada gigi (Takushige dkk, 2004).

Secara teknis, terapi LSTR dilakukan dengan mengambil enamel yang terinfeksi yang terdapat pada atap pulpa. Setelah atap pulpa bersih, 3MIX-MP diletakkan pada kavitas tanpa perlu dilakukan preparasi dan pengisian saluran akar (non-instrumentation endodontic treatment: NIET), kemudian ditumpat dengan glass ionomer cement (GIC) (Takushige, 2004).

2.2 Metronidazol

Metronidazol menjadi pilihan pertama, karena mempunyai spektrum bakterial yang luas dan melawan bakteri anaerob (Ingham et al. 1975). Metronidazol merupakan salah satu bahan kemoterapi yang sering dipakai untuk mikroorganisme anaerob, seperti infeksi pada jaringan atau tempat yang dalam. Secara mikrobiologis bahan antimikroba tersebut mempunyai efek marginalis

dengan menurunkan total koloni bakteri anaerob (Loesche dkk, 1991). Bakteri anaerob merupakan penyebab terbanyak dari lesi periapikal.

Metronidazol memiliki kemampuan yang sangat kuat dalam melawan bakteri anaerob obligat dan bakteri *microaerophilic*, yang termasuk penyebab infeksi orofasial akut, periodontitis dan *necrotizing ulcerative gingivitis* (Yagiela, 1999).

Metronidazol ialah (1 β -hidroksi-etil)-2-metil-5-nitroimidazol yang berbentuk kristal kuning muda dan sedikit larut dalam air atau alkohol. Selain memiliki efek trikomoniasid, metronidazol juga mempunyai efek amubisid dan efektif terhadap *Giardia lamblia* (Ganiswara, 2001).

Metronidazol adalah antiprotozoa yang juga mempunyai aktivitas terhadap *Gardenella vaginalis* dan bakteri anaerob seperti *Bacterioides* dan *Klostridium*. Metronidazol merupakan kemoterapi yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap mikroorganisme gram negatif. Cara kerja metronidazol adalah dengan menembus membran sel bakteri sehingga berikatan dan merusak struktur heliks molekul DNA (asam deoksiribonukleat) bakteri. Kerusakan struktur DNA tersebut, mengakibatkan kematian mikroorganisme anaerob dengan cepat (Lie dkk, 1998).

2.2.1 Farmakologis Metronidazol

Metronidazol memperlihatkan daya amubisid langsung. Pada biakan *E. histolytica* dengan kadar metronidazol 1-2 $\mu\text{g/ml}$, semua parasit musnah dalam 24 jam. Metronidazol juga memperlihatkan daya trikomoniasid langsung. Pada biakan *Trichomonas vaginalis* kadar metronidazol 2,5 $\mu\text{g/ml}$ dapat

menghancurkan 99% parasit dalam waktu 24 jam. Trofozoit *Giardia lamblia* juga dipengaruhi langsung pada kadar 1-50 µg/ml (Ganiswara, 2001).

Absorpsi metronidazol berlangsung dengan baik, satu jam setelah pemberian dosis tunggal 500 mg per oral diperoleh kadar plasma kira-kira 10µg/ml. Untuk kebanyakan protozoa dan bakteri yang sensitif rata-rata diperlukan kadar tidak lebih dari 8µg/ml (Ganiswara, 2001).

2.2.2 Toksisitas Metronidazol

Menurut Ganiswara (2001) lidah berselaput, glossitis dan stomatitis dapat terjadi selama pengobatan dan hal ini berkaitan dengan moniliasis.

Metronidazol adalah suatu nitroimidazol, sehingga ada kemungkinan dapat menimbulkan gangguan darah.

2.3 Siprofloksasin

Siprofloksasin termasuk dalam golongan kuinolon, yang mempunyai daya antibakteri yang kuat dibandingkan asam nalidiksat, spektrum antibakteri lebih lebar, sehingga dapat digunakan untuk infeksi sistemik (Munaf, 1994).

Mekanisme kerja kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis DNA bakteri dengan memblok enzim DNA-girase. DNA-girase adalah enzim yang unik dan berfungsi untuk memelihara kromosom pada keadaan *supercoiled* dan memperbaiki *single strand* DNA yang pecah selama proses replikasi DNA bakteri. Mamalia tidak mengandung enzim tersebut sehingga turunan kuinolon dapat bekerja secara selektif menghambat sintesis DNA bakteri tanpa mempengaruhi DNA mamalia (Siswandono, 2000).

Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif (Siswandono, 2000). Dengan aktivitas yang lebih rendah, golongan obat ini juga dapat menghambat bakteri gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus Aureus* yang resisten terhadap metisilin (Ganiswara, 2001).

Terhadap jaringan periodontal, siprofloksasin efektif pada *rapidly progressive* atau *refractory periodontitis* yang berhubungan dengan bakteri *Enterobacteriaceae* yang telah di tentukan dengan tes kultur dan sensitivitas (Yagiela, 1999).

2.3.1 Farmakologis Siprofloksasin

Absorpsi per oral bervariasi antara 50-90%. Dosis umumnya berkisar antara 400-600 mg/hari. Kadar puncak berkisar antara 2-6 µg/ml. Waktu paruh eliminasi pada siprofloksasin 3,5-4 jam. Kadar Hambat Minimal untuk *Enterobacteriaceae*, *Serratia*, *Providencia*, dan *Ps. aureginosa* adalah umumnya 2 µg/ml (Munaf, 1994).

Menurut Ganiswara (2001) penyerapan siprofloksasin akan terhambat bila diberikan bersama antasida. Siprofloksasin hanya sedikit yang terikat dengan protein. Sifat lain yang menguntungkan ialah masa paruh eliminasinya panjang sehingga obat cukup diberikan 2 kali sehari.

2.3.2 Toksisitas Siprofloksasin

Reaksi hipersensitivitas berupa *rash*, *pruritus*, *dermatitis eksfoliatif*, Stevens-Johnson syndrome, dan reaksi fototoksik. Penderita yang memakai

fluorokuinolon dianjurkan agar menghindar diri dari paparan sinar ultraviolet yang berkepanjangan (Yagiela, 1999).

Pada beberapa spesies hewan percobaan, golongan kuinolon ternyata dapat menyebabkan artropati pada hewan yang masih muda, karena *chelation* ion Mg^{2+} . Golongan obat ini tidak diindikasikan pada wanita hamil dan anak yang belum berusia 18 tahun (Ganiswara, 2001).

2.4 Minosiklin

Minosiklin termasuk dalam golongan tetrasiklin, yang mempunyai kemampuan luas terhadap bakteri gram positif dan negatif yang tidak terjangkau oleh antibiotika lainnya. Golongan tetrasiklin adalah golongan antibiotika yang bersifat bakteriostatik (Munaf, 1994).

. Turunan tetrasiklin adalah senyawa bakteriostatik dengan spektrum anti bakteri yang luas, karena mempunyai sifat pembentuk kelat dan mampu menghilangkan ion logam-logam yang penting bagi kehidupan bakteri, seperti ion Mg (Siswandono, 2000).

Minosiklin aktif terhadap bakteri gram positif, terutama staphylococci dan streptococci yang telah kebal terhadap turunan tetrasiklin yang lain (Siswandono, 2000).

Resistensi terhadap satu jenis tetrasiklin biasanya disertai resistensi terhadap semua tetrasiklin lainnya, kecuali minosiklin resistensi terhadap *Streptococcus Aureus* (Ganiswara, 2001).

2.4.1 Farmakologis Minosiklin

Menurut Ganiswara (2001) sekitar 30-80% tetrasiklin diserap dalam saluran cerna. Doksisisiklin dan minosiklin diserap lebih dari 90%. Dibandingkan dengan tetrasiklin lainnya, doksisisiklin dan minosiklin daya penetrasinya ke jaringan lebih baik.

Volume distribusi tetrasiklin lebih besar dari pada di dalam cairan tubuh. Tetrasiklin terikat pada protein plasma dalam berbagai tingkatan. Dosis berkisar antara 50-500. Untuk dosis minosiklin 50-100 mg/ hari (Munaf, 1994).

Bioavailabilitas tetrasiklin menurun bila diberikan bersama-sama dengan antasid aluminium hidroksi gel, Natrium bikarbonat, Kalsium, Magnesium. Mekanisme terjadinya pengurangan absorpsi ini disebabkan terbentuknya *chelation* dan meningkatnya pH lambung (Yagiela, 1999).

2.4.2 Toksisitas Minosiklin

Berupa superinfeksi karena resistensi dan jamur kandida, biasanya terjadi di rongga mulut, faring dan infeksi sistemik. Reaksi hipersensitivitas berupa kulit merah, urtikaria, dermatitis, anafilaksis sehingga sering terjadi sensitivitas terhadap berbagai tetrasiklin. Pemberian topikal sebaiknya jangan dilakukan karena resiko terjadinya sensitisasi. (Munaf, 1994).

Tetrasiklin tidak diperbolehkan diberikan pada wanita hamil dan anak di bawah usia 8 tahun, karena bersifat teratogenik dan dapat menekan pertumbuhan tulang (Siswandono, 2000).

Turunan tetrasiklin juga menyebabkan stain pada gigi yang bersifat menetap, karena dapat membentuk kelat dengan kalsium fosfat dalam struktur tulang dan gigi, serta berpotensi terjadi hepatotoksik (Yagiela, 1999).

2.5 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan salah satu pengujian paling awal dan penting dilakukan terhadap suatu bahan yang akan dipakai di bidang kedokteran gigi. Berbagai pengujian dilakukan untuk mengetahui apakah bahan tersebut memenuhi syarat untuk dapat diterima jaringan, tidak mengandung substansi yang bisa menyebabkan respon sistemik, bebas dari reaksi alergi dan karsinogenik (Annusavice, 1996).

Idealnya bahan kedokteran gigi yang akan diaplikasikan ke dalam rongga mulut harus tidak toksik, tidak iritan, tidak karsinogenik atau tidak menyebabkan alergi (Mc Cabe, 1990). Bahan antimikroba yang umum digunakan di kedokteran gigi umumnya memiliki beberapa efek yang tidak diinginkan (Seymon, 1988). Untuk mencapai persyaratan tersebut, maka suatu bahan gigi sebelum digunakan di klinik atau sebelum diaplikasikan harus melalui berbagai macam pengujian, antara lain styles cell transformation test, cytotoxicity test, yang semuanya menggunakan teknik kultur sel (Matt, 1999).

Uji sitotoksisitas ini menurut Annusavice (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 di evaluasi berdasarkan potensi radang atau imunogenik termasuk di dalamnya adalah uji toksisitas sistemik, uji toksisitas inhalasi, uji toksisitas iritasi kulit, uji hipersensitifitas dan respon inflamasi.
- c. Uji aplikasi klinis, merupakan evaluasi bahan sesuai dengan pemakaian secara klinis.

Telli et al (1999) yang pada penelitiannya menyatakan bahwa parameter toksisitas berdasarkan CD_{50} , artinya suatu bahan dikatakan toksik apabila persentase sel mati setelah terpapar bahan tersebut lebih dari 50%.

2.6 Kultur Sel

Media yang paling murah dan sederhana untuk menguji suatu bahan adalah uji dengan bantuan kultur sel yang pengamatannya didasarkan pada kerusakan integritas membran sel yang terjadi setelah diberi perlakuan (Freshney, 1987).

Dalam media yang tepat, sel tanaman dan hewan dapat hidup dan berkembang biak secara *in vitro*. Sel tersebut dapat diamati di bawah mikroskop untuk melihat efek dari penambahan suatu zat ke dalamnya (Freshney, 1987).

Kultur sel memerlukan media untuk berkembang biak atau tumbuh secara *in vitro*. Media kultur yang diperlukan harus disesuaikan dengan bahan kultur yang digunakan. Bahan kultur yang digunakan juga harus disesuaikan dengan bagian tubuh yang nantinya dijadikan obyek paparan (Paul, 1975).

2.6.1 Metode Kultur Sel

Menurut Paul (1975), berdasarkan metode pembuatannya, kultur sel terbagi menjadi 4 metode:

1. *Clot culture*

Teknik ini merupakan teknik yang paling tua, tetapi masih digunakan sampai sekarang terutama dalam studi sitologi. Adapun yang paling sering dikerjakan adalah:

- a. Kultur tabung (*test tube culture*), yaitu kultur yang dikerjakan menggunakan cawan petri dan ditanam sampai terjadi *clotting*.
- b. *Coverslip culture*, yaitu kultur yang dikerjakan di atas obyek glass yang ada cekungannya kemudian di atasnya ditutup dengan gelas penutup.

2. Kultur Monolayer (*Monolayer culture*)

Sel yang ditanam dengan menggunakan metode ini akan menempel pada dasar dari wadah yang digunakan, umumnya dari gelas dan plastik yang membentuk suatu lapisan sel (*monolayer*). Dengan demikian akan terlihat bentuk dari sel yang tumbuh seperti sel bentuk fibroblas atau "*spindle shape*". Apabila pencucian dari wadah ini tidak sempurna, sel akan terlepas dari dinding wadah dan dikenal dengan istilah *stripping* dan sel akan mati.

3. Kultur Suspensi (*Suspension culture*)

Pertumbuhan sel dengan teknik akan menghasilkan sel yang melayang-layang dalam media secara suspensi. Sel yang umumnya memiliki kecenderungan untuk membentuk monolayer dipaksa tidak tumbuh

menempel pada dinding dengan cara dilakukan pengadukan terus-menerus selama inkubasi.

4. Kultur Organ

Prinsip dasar dari kultur ini adalah kultur monolayer dimana fragmen organ yang dikultur tidak melekat dengan sendirinya pada dinding wadah, melainkan sengaja dilekatkan dengan mempergunakan berbagai bahan.

2.6.2 Sifat Pertumbuhan Kultur Sel

Freshney (1987) mengklasifikasikan metode kultur sel berdasarkan sifat pertumbuhannya menjadi 3 kelompok sebagai berikut :

1. Kultur Primer (*primary cultures*)

Kultur ini diambil dari sel, jaringan, atau organ yang berasal langsung dari asalnya yaitu dari hewan dan manusia. Umumnya kultur primer berumur pendek dan hanya dapat dilakukan subkultur beberapa kali saja.

2. Kultur sel diploid (*diploid cell cultures*)

Kultur sel diploid adalah strain dari sel yang diperoleh dengan jalan melakukan subkultur berkali-kali dari kultur sel primer. Umumnya sel akan mati setelah subkultur mencapai 50-70 kali.

3. Kultur *cell lines* (*continuous cell lines*)

Cell lines sebenarnya berasal dari kultur primer yang telah mengalami perubahan sifat setelah dilakukan subkultur berkali-kali. Pertumbuhan sel pada subkultur ke 40 atau 50 berjalan lambat, kemudian akan mati.

Jika ada beberapa yang hidup, maka sel telah melewati masa krisis akan tumbuh cepat bila disubkultur lagi. Saat terjadi hambatan pertumbuhan yaitu saat periode krisis atau tahap intermediari, sifat sel tersebut akan berubah. Perubahan sel yang menguntungkan, misalnya pertumbuhannya menjadi tidak terbatas inilah yang dipelihara yang dinamakan *cell lines*. Untuk mendapatkan *cell lines* dapat melalui pertumbuhan sel setelah melewati masa krisis, melalui jaringan tumor ganas (maligna), dan melalui perubahan sifat karena virus onkogenik.

Pada saat ini *cell lines* yang banyak ditemukan oleh pusat-pusat penelitian kultur jaringan dan tersimpan di laboratorium dalam bentuk *seed* sudah umum dipakai untuk menguji biokompatibilitas bahan dan obat dalam bidang kedokteran.

Dengan menggunakan metode *die exclusion test* dapat diketahui kerusakan dinding sel yang mengakibatkan kematian sel dengan ditandai masuknya *tryphan blue* ke dalam sel (Freshney, 1987). Sel hidup ditandai dengan bentuk bulat utuh dan warna yang terang (tidak menyerap warna), sedangkan sel mati akan menyerap warna biru disertai dengan bentuk sel yang tidak utuh lagi dan jumlah sel hidup dapat dihitung dengan menggunakan hemositometer (Bird, 1981).

Untuk menghitung persentase jumlah sel yang mati dengan menggunakan metode Bird and Forrester (1981):

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

Semakin tinggi persentase sel yang hidup maka toksisitas semakin rendah dan sebaliknya jika semakin tinggi persentase sel yang mati maka toksisitas

semakin tinggi. Konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi jaringan lunak karena terjadinya denaturasi kolagen (Freshney, 1987).

2.7 Sel Fibroblas

Salah satu tipe sel yang dapat dipakai untuk pengamatan biokompatibilitas adalah sel jaringan ikat (fibroblas) (Freshney, 1987).

Fibroblas adalah sel mesenkim dasar jaringan dewasa yang fungsi utamanya adalah mensintesa komponen-komponen jaringan pengikat, yaitu kolagen dan mukopolisakarida. Bentuk fibroblas bervariasi dari *fusiform* sampai *stelat*. Nukleusnya besar, berbentuk ovoid, dengan kromatin yang halus dan nukleus dominan. Sitoplasmanya mengandung banyak retikulum endoplasma, mitokondria serta kompleks golgi (Spector & Spector, 1993).

Secara umum fibroblas berperan dalam penyembuhan luka, sebagai contoh ketika kulit terluka, fibroblas melakukan proliferasi dan migrasi ke tempat luka, fibroblas mensekresi sejumlah besar matriks ekstra seluler dan akhirnya terbentuk jaringan parut yang menutupi luka (Spector & Spector, 1993).

Fibroblas merupakan sel utama dalam jaringan pulpa, yang dapat menghasilkan matriks gelatin interseluler, didalamnya terdapat serabut kolagen yang memperkuat matriks tersebut. Sel fibroblas jumlahnya paling banyak dibanding sel-sel lain terutama pada jaringan pulpa yang muda. Sel ini terdapat pada daerah yang kaya sel (Cell rich zone) dari zona odontogenik yang terdapat pada bagian tepi jaringan pulpa di bawah lapisan odontoblas dan cell free zone. Fibroblas banyak terdapat terutama pada daerah mahkota gigi (Bhaskar, 1990).

Fibroblas merupakan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal, dan gingiva. Pada jaringan periodontal, fibroblas mensintesa kolagen dan matriks ekstraseluler yang berfungsi untuk memelihara ligamen periodontal yang sehat (Walton & Torabinejad, 1998).

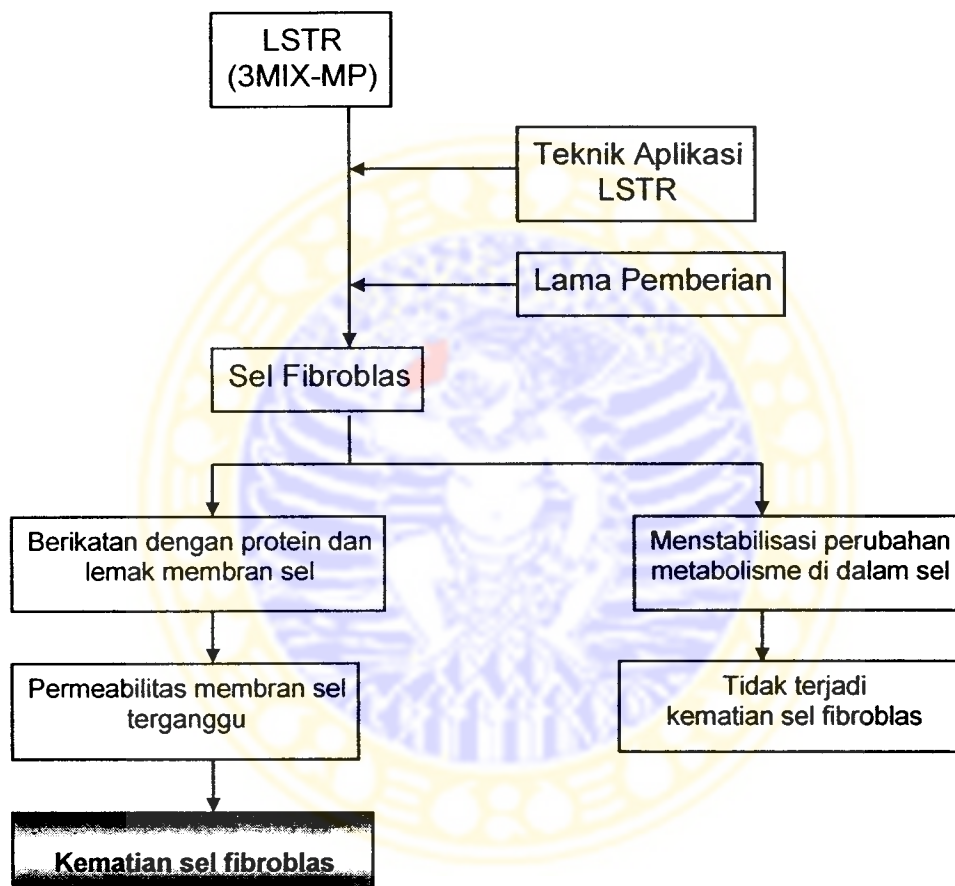
Jenis sel jaringan ikat (fibroblas) yang sering dipakai dalam teknik kultur *cell lines* adalah sel L-929 yang berasal dari fibroblas paru tikus dan sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster (Freshney, 1987).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Bagan Kerangka Konsep



Konsep terapi Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR) yang dikembangkan oleh unit Kariologi di Fakultas Kedokteran Gigi Nagata, Jepang menggunakan campuran obat anti bakteri untuk desinfeksi lesi infeksi oral termasuk dentin, pulpa dan lesi periapikal. Adanya beberapa bakteri yang resisten

terhadap metronidazol maka dibuat poliantibiotik dengan merk 3MIX yang merupakan campuran obat antibakteri lainnya yaitu minosiklin dan siprofloksasin yang dikombinasikan dengan metronidazol sebagai usaha untuk mengeliminasi bakteri yang ada pada gigi (Takushige dkk, 2004).

Terapi LSTR dapat mempengaruhi sel fibroblas yang diakibatkan dari teknik aplikasi dan lama pemberiannya terhadap sel fibroblas. Suatu bahan dapat bersifat toksik atau tidak toksik tergantung dari dosis dan cara pemakaiannya (Yuliati, 2004). Pada umumnya suatu bahan apabila digunakan pada dosis yang berlebihan dan waktu yang lama dapat bersifat toksik terhadap jaringan (Telli, 1999).

Kombinasi metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin akan berikatan dengan protein dan lemak membran sel dan dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel fibroblas, sehingga sel akan menjadi bengkak dan mati.

3.2 Hipotesis Penelitian

Terapi LSTR (3MIX-MP) mempunyai efek toksik terhadap kultur sel fibroblas.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group design*.

4.2 Obyek Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian

Obyek sampel adalah kultur sel fibroblas (*Baby Hamster Kidney-21*).

Sampel untuk setiap perlakuan ditentukan menurut rumus (Daniel, 1991):

$$n = \frac{(\sigma \cdot Z_{\alpha})^2}{d^2}$$

Keterangan: n : jumlah sampel

σ : varians populasi

Z_{α} : harga standard normal pada $\alpha = 0.05$

d : penyimpangan yang ditolerir

$$n = \frac{(0,013)^2 \cdot (1,96)^2}{(0,01)^2}$$

$$= 6,49 \sim 6$$

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas :dosis 3MIX-MP.

4.3.2 Variabel Tergantung : jumlah sel fibroblas yang hidup atau mati pada kultur sel fibroblas.

4.3.3 Variabel Terkendali :

- Perbandingan metronidazol, minosiklin dan siprofloksasin.
- Waktu inkubasi.
- Media dan jumlah sel fibroblas yang digunakan.

4.4 Definisi Operasional

4.4.1 Pasta kombinasi metronidazol, minosiklin dan siprofloksasin

Campuran antara siprofloksasin, metronidazol dan minosiklin dengan rasio 1:3:3 (3MIX). Kemudian mencampur 3 kombinasi obat tersebut dengan *macrogol* dan *propylene glycol*, sehingga menjadi bentukan pasta.

4.4.2 Derajat sitotoksitas

Derajat kematian sel yang terjadi karena paparan suatu bahan yang toksik terhadap sel. Persentase kematian sel dihitung melalui perbandingan jumlah sel yang mati dengan jumlah total sel di dalam kultur baik yang hidup maupun yang mati.

4.4.3 Sel fibroblas yang hidup

Sel dikatakan hidup apabila sel tidak menyerap zat warna *tryphan blue* sehingga sel terlihat terang pada saat penghitungan melalui mikroskop cahaya.

4.4.4 Sel fibroblas yang mati

Sel dikatakan mati apabila pada saat penghitungan di mikroskop cahaya, sel berwarna ungu gelap, atau sudah mulai berwarna ungu dikarenakan sel yang mati menyerap zat warna *tryphan blue*.

4.4.5 Kultur sel

Hasil pembiakan sel *Baby Hamster Kidney-21* pada Eagle's MEM (*Minimum Essential Medium*).

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat yang digunakan

- *Laminar flow* (Oliphant, Australia)
- Botol kultur Roux (Roux, Schott Duran, Germany)
- *Tissue Culture Plate (TC Plate) 24 Well*
- Pipet (Pyrex, Japan)
- Mikro pipet
- Inkubator CO₂ 37°C (Mettler, Germany)
- Tabung erlenmeyer
- Hemositometer (Neubeuer, Swiss)

- Timbangan digital
- Mikroskop cahaya (Olympus CK, Japan)
- Centrifuge

4.5.2 Bahan yang digunakan

- Metronidazol
- Siprofloksasin
- Minosiklin
- *Macrogol*
- *Propylene glycol*
- Akuades
- Kultur sel (*Baby Hamster Kidney-21*)
- *Eagle's MEM (Minimum Essential Medium)*
- *Phosphat buffer saline (PBS)*
- *Fetal bovine serum 10%*
- *Trypsyn versene 0,25%*
- *Tryphan blue*
- *Hepes*

4.6 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Pusat Veterinaria Farma di Jalan Ahmad Yani, Surabaya.



4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan 3MIX-MP

1. Menyiapkan satu tablet siprofloksasin 1 tablet, metronidazol 3 tablet dan minosiklin 3 tablet, sesuai dengan perbandingan 1:3:3.
2. Tablet siprofloksasin digerus sampai halus untuk mendapatkan bentuk serbuk.
3. Dipindahkan ke wadah keramik, ditutup rapat, menggunakan kertas pembungkus obat berlapis parafin untuk membungkus serbuk.
4. Alat-alat yang digunakan untuk siprofloksasin dicuci dan dikeringkan untuk menghindari campuran obat dengan obat yang lain. Dapat digunakan etanol untuk membersihkan mortar.
5. Dilakukan hal yang sama untuk tablet metronidazol dan minosiklin.
6. Apabila semuanya sudah dalam bentuk serbuk, dicampur dalam satu wadah dan diaduk sampai homogen (3MIX).
7. Pada tempat lain, diambil *macrogol* (M) dan ditimbang seberat 1 gram pada timbangan digital, kemudian pada timbangan digital dilakukan tara dan di teteskan *propylene glycol* (P) sampai timbangan menunjukkan 1 gram, sesuai dengan perbandingan 1:1 (MP).
8. Untuk membuat 3MIX-MP dibutuhkan 7 bagian 3MIX, dengan berat 700mg dan 1 bagian MP, dengan berat 100mg (3MIX:MP = 7:1). Semua bahan dicampur sampai homogen dan jadi bentukan pasta. (Takushige & Hoshino, 2004).

4.7.2 Persiapan Kultur Sel

4.7.2.1 Penghidupan sel induk (*revival*) dan pembagian kultur sel (*splitting*) (Paul,1975)

1. Kultur sel induk (seed cells) yang sebelumnya telah dibekukan, dicairkan di dalam akuades steril suhu 37°C.
2. Setelah cair, kultur sel induk diputar dengan *centrifuge* 500 RPM selama 5 menit, untuk membuang sisa media lama yang mengandung pengawet.
3. Di dalam laminar flow, supernatan yang ada dibuang sehingga tersisa endapan sel di dasar.
4. Endapan sel tersebut diambil dan disuspensikan dengan media *Eagle's MEM* yang mengandung *fetal bovine* serum 10% yang kemudian ditanam di dalam botol Roux, kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diikat dengan karet.
5. Untuk mempertahankan pH media dan kultur agar tetap 7,2 dapat diberikan larutan *hepes*.
6. Bila semua telah sesuai dengan prosedur, kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kelembaban CO₂ 5%.

4.7.2.2 Pembagian kultur sel (*splitting*)

1. Bila kultur sel di dalam Roux telah “penuh”.
2. Media yang ada dibuang dan dicuci menggunakan larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) sebanyak 2 ml sebanyak 5 kali untuk

membersihkan sisa hasil metabolisme sehingga hanya tertinggal sel yang menempel pada botol kultur.

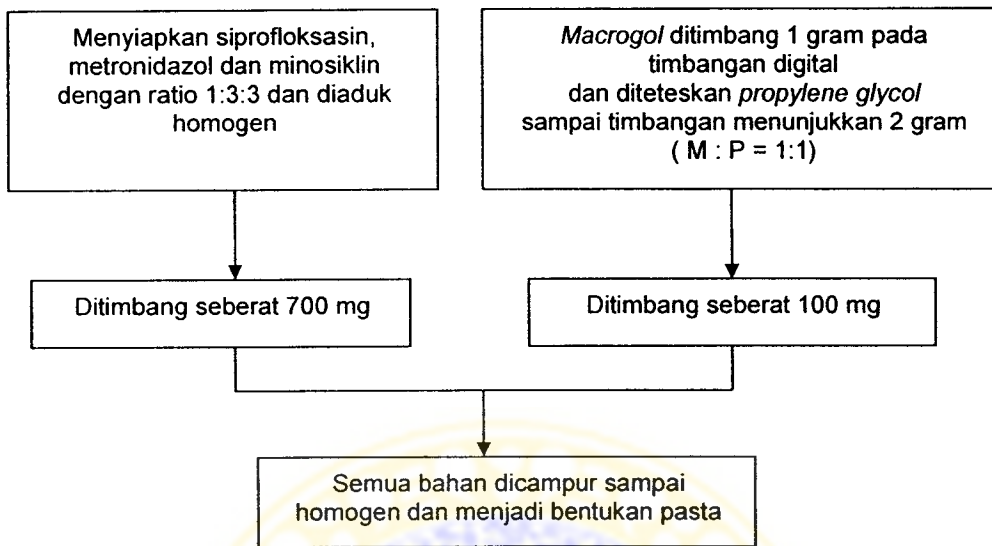
3. Diberi *trypsin versene* 0,25% dan digoyang-goyangkan agar rata selama 5 menit. *Trypsin versene* untuk melepaskan sel agar dapat diamati dan dihitung. *Trypsin* digunakan untuk memisahkan ikatan antar sel sedangkan *versene* digunakan untuk melepaskan sel dari dinding botol.
4. Setelah sel terlepas, kemudian dimasukkan media *Eagle's MEM* yang mengandung *fetal bovine serum* 10%.
5. Dibagikan (spilt) ke dalam *TC plate 24 well* yang ada.
6. Media disesuaikan sehingga terdapat 2 ml media di setiap *well* kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kelembaban CO₂ 5%.
7. Setelah 24 jam, sel yang terdapat di setiap *well* telah penuh dan siap untuk dilakukan perlakuan.

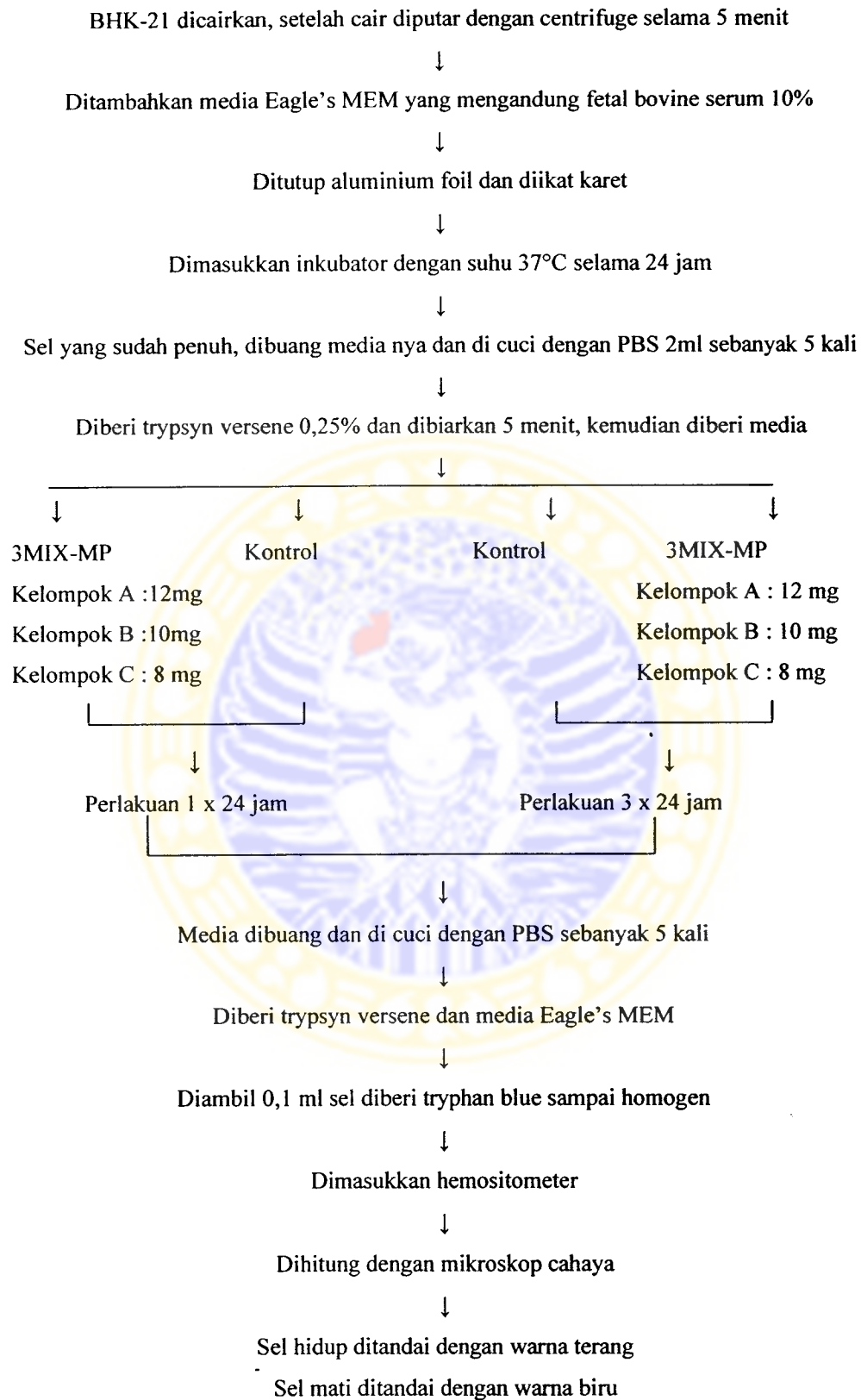
4.7.3 Perlakuan Kultur Sel

1. *TC plate* dikeluarkan dari inkubator dan diletakkan dalam *laminar flow* untuk dilakukan perlakuan.
2. Pada kelompok A diberikan 3MIX-MP dengan dosis 12 mg.
Pada kelompok B diberikan 3MIX-MP dengan dosis 10 mg.
Pada kelompok C diberikan 3MIX-MP dengan dosis 8 mg.
Pada kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan.
Kelompok-kelompok tersebut di inkubasi selama 1 x 24 jam.

3. Dilakukan hal yang sama pada 5 kelompok diatas dan di inkubasi selama 3 x 24 jam.
4. Media yang ada di dalam well dibuang menggunakan pipet dan dicuci menggunakan larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) sebanyak 2 ml sebanyak 5 kali untuk membersihkan sisa hasil metabolisme sehingga hanya tertinggal sel yang menempel pada *TC plate*.
5. Kemudian diberi 0,1 ml *trypsin versene* untuk melepaskan sel agar dapat diamati dan dihitung.
6. Dibiarkan 5 menit sampai sel-sel lepas dari ikatan antar sel dengan dinding botol.
7. Setelah sel lepas dilarutkan dalam 2 ml media, lalu diambil 0,1 ml sel, ditambahkan tryphan blue 0,9 ml.
8. Setelah tercampur, diambil dan diletakkan pada hemositometer untuk dihitung menggunakan mikroskop cahaya. Sel yang hidup berwarna terang sedangkan yang mati berwarna ungu.

4.8 Alur Penelitian





4.9 Pengolahan Data dan Analisis Data

Data yang sudah dikumpulkan dilakukan penghitungan persentase. Rencana analisis data disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan untuk mendapatkan gambaran hasil penelitian. Kemudian akan dilakukan uji one-way ANOVA untuk melihat perbedaan yang ada pada kelompok-kelompok data tersebut.



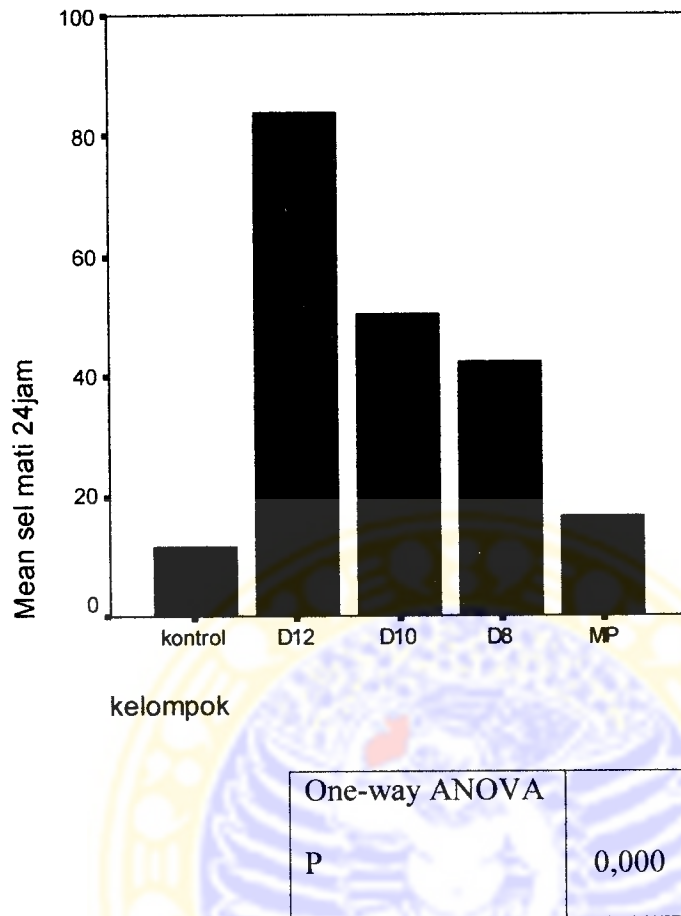
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya dengan menggunakan media *Eagle's MEM* pada kultur sel fibroblas dan dilakukan penghitungan jumlah sel fibroblas. Pada kelompok kontrol, yaitu kelompok yang tidak diberikan perlakuan dan kelompok perlakuan yang mendapat aplikasi 3MIX-MP, terbagi atas kelompok A dengan dosis 12 mg, kelompok B dengan dosis 10 mg dan kelompok C dengan dosis 8 mg, kemudian didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.1 Distribusi rata-rata dan standar deviasi persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 1x24 jam

	Sediaan	Rata-rata	Standar Deviasi	Minimum	Maximum
Kontrol	6	11,5917	6,83985	6,06	23,08
Dosis 12 mg	6	83,7300	13,97724	66,67	100,00
Dosis 10 mg	6	50,4950	7,41820	37,50	58,33
Dosis 8 mg	6	42,3600	15,26075	22,22	66,67
MP	6	16,6850	5,10355	11,11	25,00



Gambar 5.1 Tingkat perbedaan rata-rata kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 1x24 jam

Pada tabel 1 dapat dilihat kelompok kontrol mempunyai rata-rata persentase kematian sel fibroblas sebesar $11,5917\% \pm 6,83985\%$ dan pada kelompok perlakuan dengan dosis 12 mg memiliki rata-rata $83,7300\% \pm 13,97724\%$, pada kelompok perlakuan dengan dosis 10 mg memiliki rata-rata $50,4950\% \pm 7,41820\%$, pada kelompok perlakuan dengan dosis 8 mg memiliki rata-rata $42,3600\% \pm 15,26075\%$ dan MP (*macrogol* dan *propylene glycol*) memiliki rata-rata $16,6850\% \pm 5,10355\%$.

Dari hasil penghitungan persentase kematian sel fibroblas tersebut, dapat terlihat kelompok perlakuan yang mendapat aplikasi 3MIX-MP mempunyai

kematian sel fibroblas lebih besar dari kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan. Kelompok perlakuan MP (*macrogol* dan *propylene glycol*) yang berfungsi sebagai bahan pembawa mempunyai kematian sel fibroblas yang relatif kecil dan mendekati persentase kematian sel fibroblas dari kelompok kontrol.

Hasil pengujian toksisitas 3MIX-MP menunjukkan rata-rata persentase sel fibroblas yang mengalami kematian terendah pada kelompok perlakuan dengan dosis 8 mg dan terdapat peningkatan seiring dengan kenaikan dosis 3MIX-MP. Peningkatan kematian sel fibroblas mencapai titik tertinggi pada kelompok perlakuan dengan dosis 12 mg yang rata-rata persentase kematian mencapai 80%.

Pada analisa data dengan menggunakan one-way ANOVA didapatkan signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan untuk masing-masing kelompok, untuk kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

Tabel 5.2 Distribusi tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 1x24jam

	Kontrol	Dosis 12mg	Dosis 10 mg	Dosis 8 mg	MP
Kontrol		+	+	+	-
Dosis 12 mg	+		+	+	+
Dosis 10 mg	+	+		-	+
Dosis 8 mg	+	+	-		+
MP	-	+	+	+	

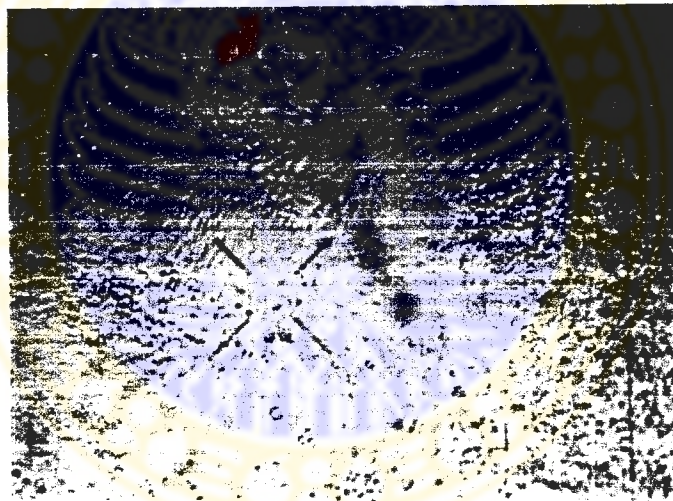
Keterangan :

+ : ada perbedaan bermakna

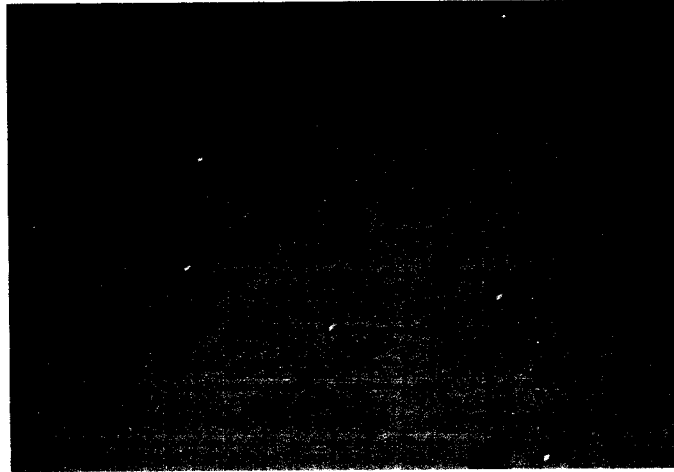
- : tidak ada perbedaan bermakna

Pada tabel 2 merupakan distribusi perbandingan persentase kematian sel fibroblas oleh setiap kelompok terhadap kelompok yang lain, dapat dilihat mayoritas terdapat perbedaan bermakna untuk masing-masing kelompok, kecuali pada perbandingan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan MP (*macrogol* dan *proplene glycol*) yang berfungsi sebagai bahan pembawa ($p > 0,05$), serta untuk perbandingan antara dosis 10 mg dan 8 mg ($p > 0,05$).

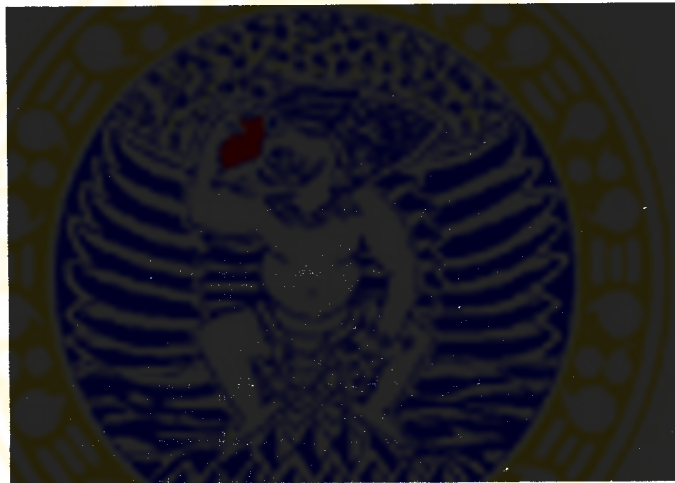
Pada gambar berikut akan ditampilkan gambaran dari sel fibroblas yang diambil saat penelitian di Pusvetma dengan menggunakan mikroskop cahaya yang diambil sebelum diberi perlakuan.



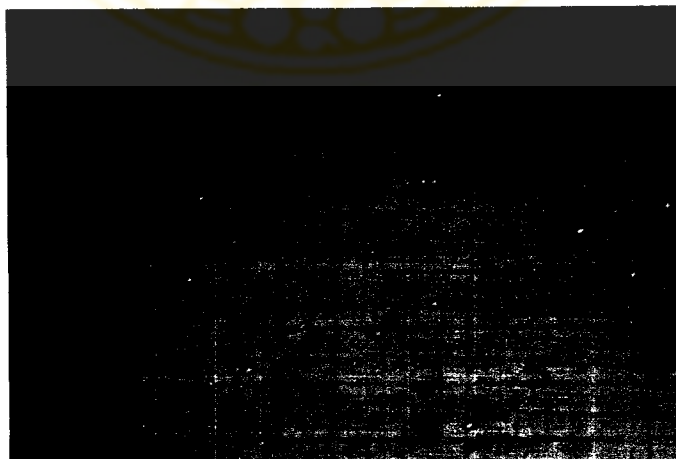
Gambar 5.2 Keadaan normal sel fibroblas sebelum dilakukan perlakuan



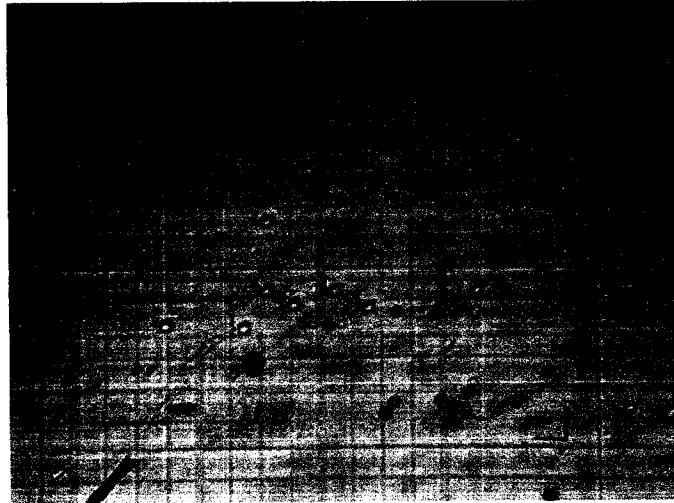
Gambar 5.3 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok kontrol selama 1x24 jam
Yang ditunjuk anak panah adalah sel fibroblas hidup yang tidak menyerap *tryphan blue*, sehingga terlihat terang.



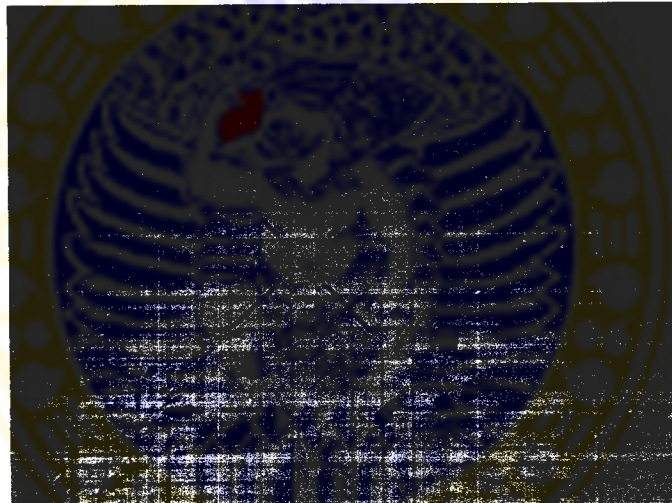
Gambar 5.4 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan MP selama 1x24jam



Gambar 5.5 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 8 mg selama 1x24jam



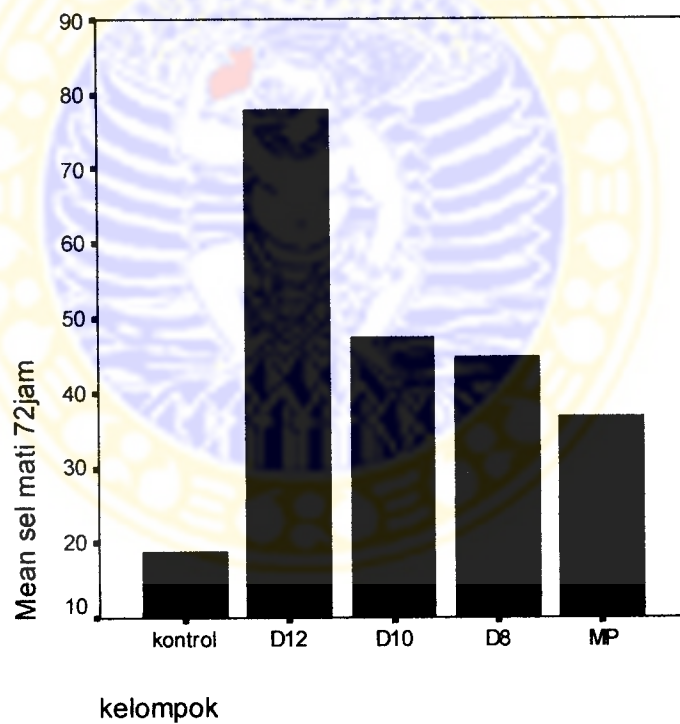
Gambar 5.6 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 10 mg selama 1x24jam
Yang ditunjuk anak panah adalah sel fibroblas yang mengalami pembengkakan
dan sudah mulai berwarna ungu karena menyerap *tryphan blue*



Gambar 5.7 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 12 mg selama 1x24jam
Yang ditunjuk anak panah adalah sel fibroblas menjadi sangat besar dan menyerap
tryphan blue

Tabel 5.3 Distribusi rata-rata dan standar deviasi persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 3x24 jam

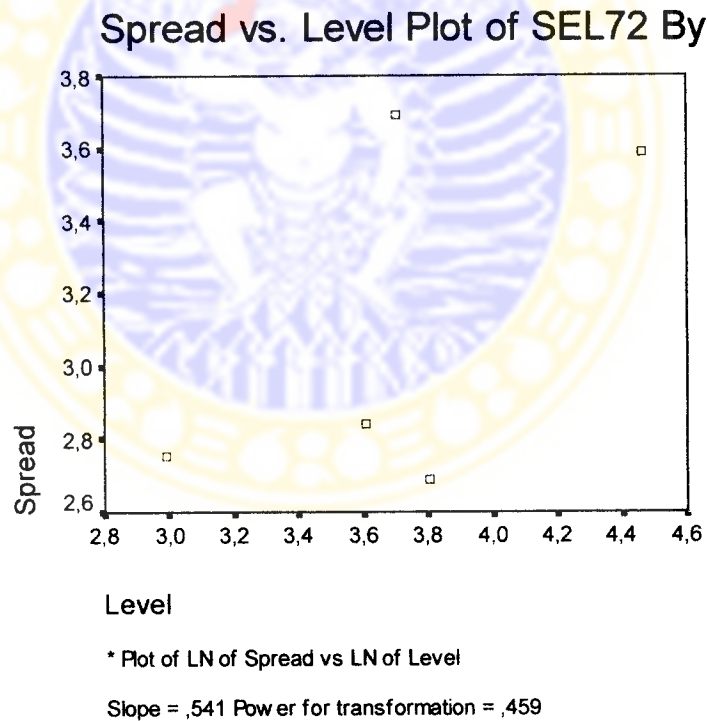
	Sediaan	Rata-rata	Standar Deviasi	Minimum	Maximum
Kontrol	6	18,7767	7,63691	9,21	26,32
Dosis 12 mg	6	77,7150	23,20223	37,50	100,00
Dosis 10 mg	6	47,2767	21,36017	26,09	78,72
Dosis 8 mg	6	44,8050	8,97140	33,33	57,14
MP	6	36,8700	10,78441	25,00	55,26



Gambar 5.8 Tingkat perbedaan rata-rata kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 3x24 jam

Pada tabel 5.3 dapat dilihat kelompok kontrol mempunyai rata-rata persentase kematian sel fibroblas sebesar $18,7767\% \pm 7,63691\%$ dan pada kelompok perlakuan dengan dosis 12 mg memiliki rata-rata $77,7150\% \pm 23,20223\%$, pada kelompok perlakuan dengan dosis 10 mg memiliki rata-rata $47,2767\% \pm 21,36017\%$, pada kelompok perlakuan dengan dosis 8 mg memiliki rata-rata $44,8050\% \pm 8,97140\%$ dan MP (*macrogol* dan *propylene glycol*) memiliki rata-rata $36,8700\% \pm 10,78441\%$.

Berdasarkan hasil pada tabel 5.3, didapatkan data tidak homogen sehingga harus ditransformasi dengan menggunakan *Level Plot* agar data menjadi homogen.



Gambar 5.9 Grafik *Level Plot*

Berdasarkan grafik level plot pada gambar 5.8 didapatkan slope 0,541 nilai tersebut menunjukkan bahwa data tidak perlu di transformasi kembali sehingga bisa dilanjutkan dengan uji ANOVA. Dari uji ANOVA didapatkan signifikansi 0,000 ($p < 0,005$). Hal ini berarti terdapat perbedaan yang bermakna untuk masing-masing kelompok, untuk kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Untuk itu perlu dilakukan uji LSD (*Uji Significant Difference*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda.

Tabel 5.4 Distribusi tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan selama 3x24jam

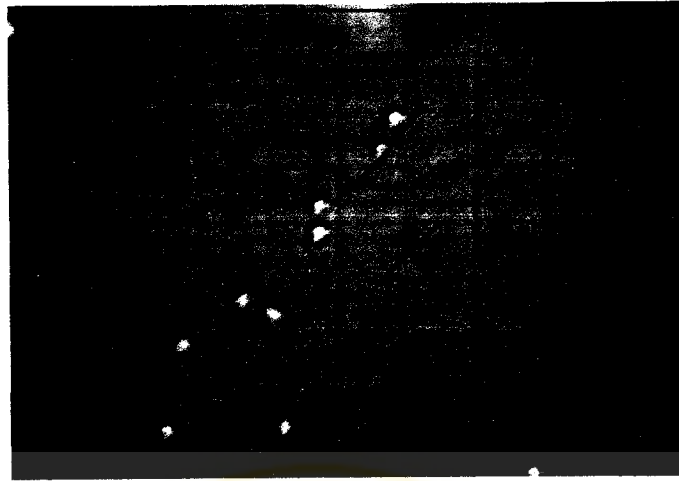
	Kontrol	Dosis 12mg	Dosis 10 mg	Dosis 8 mg	MP
Kontrol		+	+	+	-
Dosis 12 mg	+		+	+	+
Dosis 10 mg	+	+		-	-
Dosis 8 mg	+	+	-		-
MP	-	+	-	-	

Keterangan :

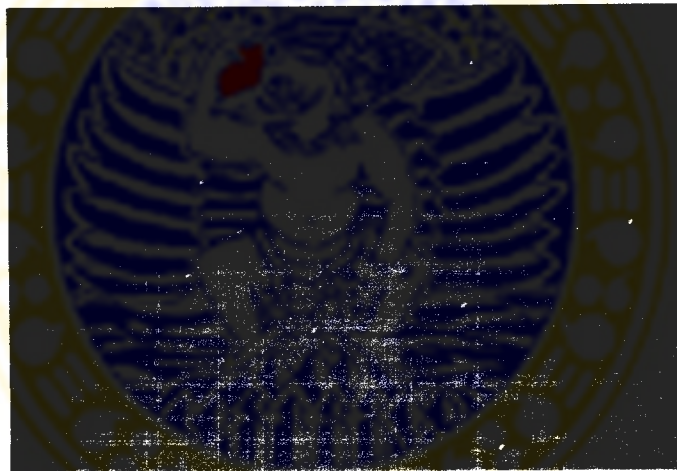
+ : ada perbedaan bermakna

- : tidak ada perbedaan bermakna

Pada tabel 5.4 merupakan distribusi perbandingan persentase kematian sel fibroblas oleh setiap kelompok terhadap kelompok yang lain, dapat dilihat mayoritas terdapat perbedaan bermakna untuk masing-masing kelompok, kecuali pada perbandingan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan MP (*macrogol* dan *proplene glycol*) yang berfungsi sebagai bahan pembawa ($p > 0,05$), serta untuk perbandingan antara dosis 10 mg, dosis 8 mg dan MP ($p > 0,05$).



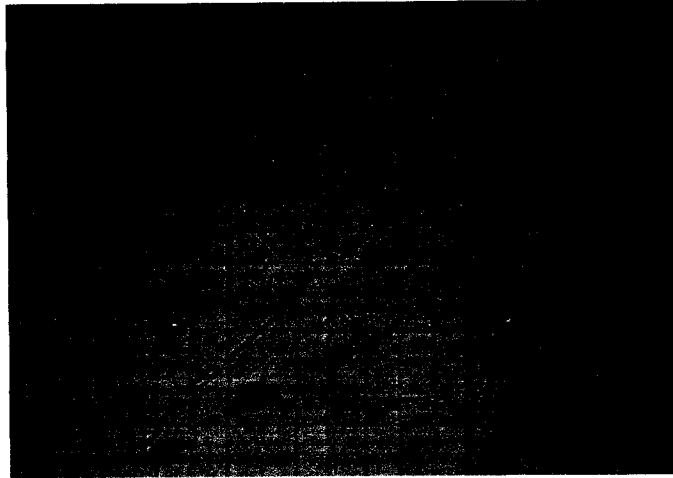
Gambar 5.10 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok kontrol selama 3x24jam
Yang ditunjuk anak panah adalah sel fibroblas hidup yang tidak menyerap *tryphan blue*, sehingga terlihat terang.



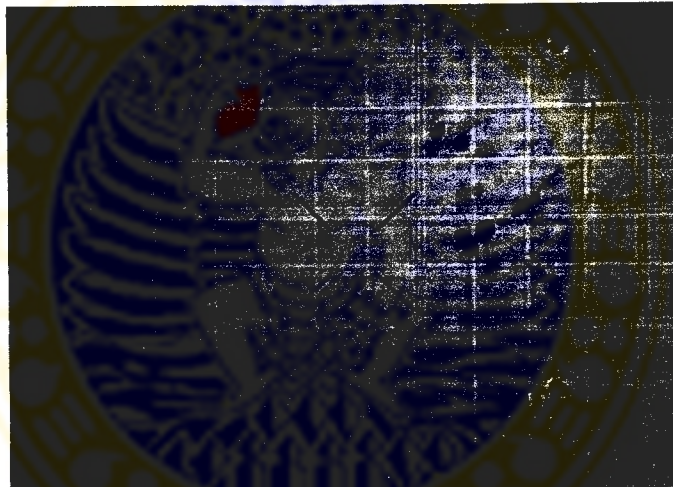
Gambar 5.11 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan MP selama 3x24jam



Gambar 5.12 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 8 mg selama 3x24jam



Gambar 5.13 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 10 mg selama 3x24jam
Yang ditunjuk anak panah adalah sel fibroblas yang mulai membengkak dan berwarna ungu, karena menyerap zat warna *tryphan blue*



Gambar 5.14 Penghitungan sel fibroblas dari kelompok perlakuan dosis 12 mg selama 3x24jam
Yang ditunjuk anak panah adalah sel fibroblas menjadi sangat besar dan menyerap *tryphan blue* sehingga berwarna ungu.

BAB 6

PEMBAHASAN

Konsep terapi Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR) yang dikembangkan oleh unit Kariologi di Fakultas Kedokteran Gigi Nagata, Jepang menggunakan campuran obat anti bakteri untuk desinfeksi lesi infeksi oral termasuk dentin, pulpa dan lesi periapikal. Adanya beberapa bakteri yang resisten terhadap metronidazol maka dibuat poliantibiotik dengan merk 3MIX yang merupakan campuran obat antibakteri lainnya yaitu minosiklin dan siprofloksasin yang dikombinasikan dengan metronidazol sebagai usaha untuk mengeliminasi bakteri yang ada pada gigi (Takushige dkk, 2004).

Campuran obat antibakterial tersebut dapat menghilangkan bakteri dari lesi, hal ini mengindikasikan bahwa terapi LSTR dapat bermanfaat untuk perawatan endodontik (Takushige, 2004). Dari hasil uji *in vitro* dan *in vivo* menggambarkan bahwa campuran metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin (3mix) efektif melawan bakteri pada rongga mulut (Takushige & Hoshino, 2004).

Metronidazol adalah golongan antibiotik yang bersifat bakterisid dimana pada kondisi anaerob akan penetrasi ke dalam sel bakteri dan akan memecah DNA sehingga akan menghalangi sintesa asam nukleat dan menyebabkan nekrosis sel bakteri (Hardman, 2001). Metronidazol bersifat efektif terhadap mikroorganisme anaerob, termasuk bakteri dan protozoa (Siswandono, 2000).

Mekanisme kerja siprofloksasin adalah menghambat sintesis DNA bakteri dengan memblok enzim DNA girase. DNA girase adalah enzim yang penting untuk replikasi DNA, bersifat unik dan berfungsi untuk memelihara kromosom

dan memperbaiki DNA yang pecah selama proses replikasi DNA bakteri. Enzim ini bertanggung jawab pada proses terjadi transkripsi dan replikasi DNA. Hambatan reproduksi DNA akan menyebabkan kematian bakteri (Siswandono, 2000).

Minosiklin merupakan derivat semi sintetis dari golongan tetrasiklin (Neidle, 1989). Tetrasiklin adalah grup antibiotik bakteriostatik dengan antibakteri berspektrum luas. Tetrasiklin dapat menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat ribosom bakteri (Hardman, 2001).

Dipilihnya terapi LSTR dalam penelitian ini karena LSTR telah dibuktikan keunggulannya dan bermanfaat untuk perawatan endodontik, yang diperkirakan aman dan tidak toksik. Walaupun belum ada laporan mengenai efek merugikan terapi LSTR, efek toksik pada terapi tersebut tidak boleh dikesampingkan. Untuk memperkecil resiko tersebut, maka dilakukan usaha untuk mencari dosis toksik terhadap kultur sel fibroblas.

Untuk meneliti toksisitas, digunakan kultur sel fibroblas sebagai obyek penelitian. Pada jaringan periodontal, fibroblas mensintesa kolagen dan matriks ekstraseluler yang berfungsi untuk memelihara ligamen periodontal yang sehat (Walton&Torabinejad, 1998).

Dipilih sel fibroblas sebagai obyek paparan karena sel fibroblas merupakan komponen utama dan terpenting yang terdapat di dalam pulpa, ligamen periodontal dan gingiva (Grossman, 1995). Pada penelitian ini digunakan kultur sel fibroblas *Baby Hamster Kidney* (BHK-21) dengan alasan bahan kultur terbaik berasal dari sel-sel jaringan embrionik, memiliki pertumbuhan yang cepat, mudah didapat dan penggunaannya lebih mudah (Freshney, 1987).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, efek toksik terapi LSTR (3MIX-MP) pada berbagai dosis terhadap kultur sel fibroblas dapat dilihat pada tabel 5.1 dan 5.3. Pada penelitian ini, didapatkan gambaran terapi LSTR memiliki toksik yang tinggi, dimulai dari dosis 8 mg sampai dengan dosis 12 mg, tetapi tidak sampai mencapai kematian yang maksimal. Akan tetapi, pada dosis 12mg memiliki toksik yang sangat tinggi, persentase sel yang mati lebih dari 50% setelah terpapar bahan tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Telli (1999) yang menyatakan bahwa suatu bahan dikatakan toksik apabila persentase sel mati setelah terpapar bahan lebih dari 50%.

Menurut Robbins and Kumar (1995) intensitas kematian sel tergantung pada kadar bahan atau obat yang berkontak dengan sel, jaringan maupun organ sasaran. Sedangkan menurut Timbrel (1994), suatu rangsangan dapat merusak sel pada organ sasaran melalui berbagai cara sehingga terjadi jejas seluler yang dapat bersifat reversibel maupun irreversibel. Apabila sel yang terkena paparan sudah mencapai *point of no return* maka terjadilah kematian sel.

Kematian sel yang meningkat akibat pemberian 3MIX-MP dengan dosis atau konsentrasi yang tinggi dapat disebabkan oleh sifat maupun struktur kimia kombinasi metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin yang dapat mengganggu kelangsungan hidup sel.

Spector and Spector (1993) menyatakan bahwa zat-zat toksik yang berasal dari hewan, tumbuhan dan zat kimia yang lain dapat menyebabkan disfungsi dan kematian sel. Pendapat tersebut diperjelas oleh Robbins and Kumar (1995) yang menyatakan bahwa peningkatan dosis bahan kimia dan obat-obatan berdampak pada terjadinya perubahan beberapa fungsi vital sel yang bermanifestasi sebagai

perubahan mekanisme homeostatik yang berhubungan dengan sintesa protein sehingga berakhir pada kegagalan sintesa Adenosin Trifosfat (ATP).

Menurut Spector and Spector (1993) sintesa protein diperlukan untuk transport lipid keluar sel, dengan membentuk ikatan lipid-protein. Terganggunya sintesa protein menyebabkan transport lipid terganggu, sehingga terjadi penumpukan lipid di dalam sel yang berakibat pembengkakan sel dan perubahan permeabilitas membran. Keadaan sel yang bengkak, pecah dan melayang tersebut menandakan bahwa sel tersebut mengalami kematian. Pada perlakuan terapi LSTR (3MIX-MP) dengan dosis 10 mg pada gambar 5.6 dan 5.13, dimana terlihat sel fibroblas menjadi lebih besar dan berwarna ungu karena menyerap zat warna *tryphan blue*.

Pada gambar 5.3 dan 5.10 terlihat sel fibroblas yang masih hidup berwarna terang sebab sel mampu menstabilisasi perubahan metabolisme di dalam sel, sehingga tidak terjadi kematian sel fibroblas.

Pada gambar 5.7 dan 5.14 terdapat keadaan yang lebih parah dengan terlihatnya sel-sel fibroblas yang menjadi sangat besar, berwarna sangat gelap dan banyak sel yang telah pecah sehingga mengakibatkan kematian sel. Hal ini kemungkinan disebabkan sel telah mengalami kematian langsung setelah tetes pertama perlakuan diberikan sehingga sel menyerap cairan yang sangat banyak dari ekstraseluler termasuk juga bahan *tryphan blue*.

Sifat toksisitasnya meningkat sejalan dengan peningkatan dosis atau konsentrasi. Ini berarti bahwa obat-obat tersebut berpotensi menimbulkan kerusakan sel yang dapat berakibat kerusakan jaringan.

Berdasarkan hasil penelitian, terapi LSTR yang menggunakan kombinasi metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin dengan dosis 10 mg dan 8 mg memiliki dosis toksisitas yang kurang dari 50%, tetapi meningkat tajam pada dosis 12 mg. Pernyataan ini berarti terapi LSTR yang menggunakan kombinasi metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin memiliki potensi untuk menimbulkan kerusakan sel yang diakibatkan karena permeabilitas sel berubah, maka akan menyebabkan peningkatan perpindahan sel molekul (translokasi) dari intrasel ke ekstrasel sehingga sel kehilangan unsur metabolit yang diperlukan untuk menjaga kelangsungan hidupnya. Pernyataan di atas sesuai dengan pendapat Robbins (1995) yang mengatakan permeabilitas membran diperlukan untuk menjaga keutuhan sel dengan volume yang normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Timbrel (1994) yang menyatakan bahwa semua substansi dapat bersifat sebagai racun, sedangkan yang membedakan bersifat racun atau tidak adalah dosis.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa:

Terapi Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR) yang memakai campuran metronidazol, siprofloksasin dan minosiklin (3mix) dan campuran bahan pembawa yaitu *macrogol* dan *propylene glycol* (MP) mempunyai sifat toksik terhadap kultur sel fibroblas pada dosis 8 mg dan meningkat pada dosis 12 mg.

7.2 Saran

1. Terapi LSTR yang nantinya akan digunakan sebagai bahan alternatif lain dalam upaya menyembuhkan lesi periapikal, maka perlu diadakan penelitian pada hewan coba.
2. Perlu diadakan penelitian untuk membandingkan toksisitas terapi LSTR dengan toksisitas obat-obat saluran akar yang biasa digunakan di klinik, agar dapat digunakan sebagai alternatif obat saluran akar yang optimal.
3. Perlu diadakan penelitian untuk menentukan dosis efektif, agar dapat digunakan sebagai obat sterilisasi saluran akar yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhaskar S. N. **Orban's Oral Histology and Embriology**. 11th ed. St. Louis. P: 139-156.
- Bird, PR. & Forrester, FT. 1981. **Basic Laboratory Techniques in Cell Culture**. Public Health Service Centre of Disease Control. USA. P: 33-36
- Cohen Stephen , and Burns Richard C. 1994. **Pathway of the Pulp**. Mosby. USA. P: 296-332
- Daniel, WW. 1991. **Biostatistic Formulation for Analysis in The Health Sciences**. 5th edition. New York: John Willey and Sons. P:155
- David. **Sitotoksisitas Lession Sterilization and Tissue Repair (LSTR(3Mix-Mp)) Terhadap Kultur Sel Fibroblas Dibanding Pulpotec**. Karya Tulis Akhir program pendidikan dokter gigi spesialis. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Freshney R.I. 1987. **Culture of Animals Cell: A Manual of Basic Technique**. 2nd edition. New York: Alan R. Liss inc. p:7-12
- Ganiswara Sulistia G. 2001. **Farmakologi dan Terapi**. Edisi ke 4. Jakarta: Gaya Baru. P: 540-541, 651-652
- Hardman J.G. Phd.2001. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basics of Therapeutics**. 10th. New York: Mc Graw Hill Medical Publishing Division. P: 1105-08, 1179-83, 1240-46.
- Katzung Bertram G. 2001. **Basic and Clinical Pharmacology**. 8th edition. USA: McGraw-Hill/ Lange Medical Books. P: 642-648
- Krismariono Agung. 2002. **Biokompatibilitas Klindamisin 0,5%, 1%, 1,5% dan 2% Terhadap Sel Jaringan Ikat**. Karya tulis akhir program pendidikan dokter gigi spesialis. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. P: 30-34
- Lie, T., Bruun, G., dan Boe, O. E. 1998. **Effect of Topical Metronidazole and Tetracycline in Treatment of Adult Periodontitis**. *J Periodondol*. 69. p: 819-827

- Loesche, W. J., Schmidt, E., B. A., Morrison, E. D., Caffesse, R., dan Hujoel, P. 1991. **The Effect of Metronidazol on Periodontal Treatment Needs.** *J Periodondol.* P: 247-257.
- Melmon and Morelli's. 2000. **Clinical Pharmacology.** 4th edition. New York: Mc-Graw-Hill Companies inc. p: 984-986
- Munaf Sjamsuir. 1994. **Catatan Kuliah Farmakologi Bagian III.** Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. P:34-56
- Paul John. 1975. **Cell and Tissue Cultures.** Edinburg: Bailliere Tindall. P:345-355
- Rubianto M. 1998. **Biokompatibilitas Bahan Allograft (Human bone powder) Dibandingkan dengan Bahan Alloplast (Hydroxylapatite).** *Kumpulan Naskah Temu Ilmiah Nasional I (TIMNAS I) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.* P: 507-509
- Siswandono dan Soekardjo Bambang. 2000. **Kimia Medisinal.** Jakarta: Airlangga University Press. P: 291-392
- Soenartyo Hadi dan Rianti Devi. 2003. **Uji Sitotoksisitas Ekstrak Coleus Amboinicus, Lour Menggunakan Esei MTT.** *Majalah Kedokteran Gigi; Dental Journal;* volume 36. Surabaya: Airlangga University Press. P:54-57
- Spector W.G dan Spector T.D. 1993. *Pengantar Patologi Umum.* Alih Bahasa: Sutjipto et al., edisi ke 3, Gajah Mada University Press. P: 198-202
- Syahriel, Dwis. 2004. **Efek Pemakaian Gel Metronidazol 25% Secara Topikal Terhadap Pengurangan Kedalaman Poket Periodontal.** Karya Tulis Akhir Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis. Fakultas Kedokteran Gigi Airlangga. P: 22-25.
- Takushige T, Cruz E.V, Moral Asgor A, Hoshino E. 2004. **Endodontic Treatment of Primary Teeth Using a Combination of Antibacterial Drugs.** *International Endodontic Journal;* volume 37. Jepang: Niigata University School of Dentistry. P: 132-137
- Telli C, Serper A, Dogan A.L, Guc D. 1999. **Evaluation of The Cytotoxicity of Calcium Phosphate Root Canal Sealers by MTT Assay.** *J Endodon.* P: 811-813

Yagiela John A, Dowd, Neidle. 1999. **Pharmacology and Therapeutics for Dentistry**. 5th edition. USA: Elsevier Mosby. P:366

Yuliati A. 2004. **Uji Toksisitas Resin Komposit Sinar Tampak Pada Kultur Sel dengan Esei MTT**. Majalah Kedokteran Gigi. Volume 37 no. 2 April 2004. p: 83-86.



TABEL PERLAKUAN 1 X 24 jam															
	KONTROL			A (12 mg)			B (10 mg)			C (8mg)			MP		
	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI
HASIL	32	1	3.03%	1	1	50.00%	5	7	58.33%	1	0	0.00%	20	3	13.04%
	29	3	9.38%	0	3	100.00%	6	6	50.00%	1	2	66.67%	12	3	20.00%
	34	3	8.11%	2	6	75.00%	4	2	33.33%	7	2	22.22%	16	2	11.11%
	31	2	6.06%	2	6	75.00%	6	6	50.00%	1	1	50.00%	15	3	16.67%
	30	2	6.25%	3	6	66.67%	3	4	57.14%	4	2	33.33%	8	2	20.00%
	10	2	16.67%	1	6	85.71%	5	5	50.00%	5	3	37.50%	6	1	14.29%
	10	3	23.08%	0	6	100.00%	5	3	37.50%	5	4	44.44%	3	1	25.00%
RATA-RATA			10.37%			78.91%			48.04%			36.31%			17.16%

TABEL PERLAKUAN 3 X 24 jam															
	KONTROL			A (12 mg)			B (10 mg)			C (8mg)			MP		
	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI	HIDUP	MATI	% MATI
HASIL	56	20	26.32%	4	40	90.91%	27	25	48.08%	3	3	50.00%	60	40	40.00%
	69	7	9.21%	2	20	90.91%	34	12	26.09%	3	4	57.14%	47	28	37.33%
	36	11	23.40%	16	28	63.64%	10	37	78.72%	10	3	23.08%	51	63	55.26%
	40	43	51.81%	5	3	37.50%	8	4	33.33%	8	4	33.33%	34	46	57.50%
	77	15	16.30%	7	3	30.00%	9	4	30.77%	6	6	50.00%	7	4	36.36%
	16	2	11.11%	4	20	83.33%	8	2	20.00%	7	4	36.36%	8	3	27.27%
	14	5	26.32%	0	10	100.00%	6	12	66.67%	6	4	40.00%	6	2	25.00%
RATA-RATA			23.50%			70.90%			43.38%			41.42%			39.82%

Keterangan: % MATI: Persentase sel fibroblas yang mati

LAMPIRAN

LAMPIRAN

Descriptives

sel mati 24jam

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	6	11,5917	6,83985	2,79236	4,4137	18,7696	6,06	23,08
D12	6	83,7300	13,97724	5,70618	69,0618	98,3982	66,67	100,00
D10	6	50,4950	7,41820	3,02847	42,7101	58,2799	37,50	58,33
D8	6	42,3600	15,26075	6,23017	26,3448	58,3752	22,22	66,67
MP	6	16,6850	5,10355	2,08352	11,3291	22,0409	11,11	25,00
Total	30	40,9723	28,17684	5,14436	30,4509	51,4937	6,06	100,00

ANOVA

sel mati 24jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20243,538	4	5060,884	45,502	,000
Within Groups	2780,565	25	111,223		
Total	23024,103	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sel mati 24jam

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	D12	-72,1383(*)	6,08886	,000	-84,6786	-59,5981
	D10	-38,9033(*)	6,08886	,000	-51,4436	-26,3631
	D8	-30,7683(*)	6,08886	,000	-43,3086	-18,2281
	MP	-5,0933	6,08886	,411	-17,6336	7,4469
D12	kontrol	72,1383(*)	6,08886	,000	59,5981	84,6786
	D10	33,2350(*)	6,08886	,000	20,6948	45,7752
	D8	41,3700(*)	6,08886	,000	28,8298	53,9102
	MP	67,0450(*)	6,08886	,000	54,5048	79,5852
D10	kontrol	38,9033(*)	6,08886	,000	26,3631	51,4436
	D12	-33,2350(*)	6,08886	,000	-45,7752	-20,6948
	D8	8,1350	6,08886	,194	-4,4052	20,6752
	MP	33,8100(*)	6,08886	,000	21,2698	46,3502
D8	kontrol	30,7683(*)	6,08886	,000	18,2281	43,3086
	D12	-41,3700(*)	6,08886	,000	-53,9102	-28,8298
	D10	-8,1350	6,08886	,194	-20,6752	4,4052
	MP	25,6750(*)	6,08886	,000	13,1348	38,2152
MP	kontrol	5,0933	6,08886	,411	-7,4469	17,6336
	D12	-67,0450(*)	6,08886	,000	-79,5852	-54,5048
	D10	-33,8100(*)	6,08886	,000	-46,3502	-21,2698
	D8	-25,6750(*)	6,08886	,000	-38,2152	-13,1348

Descriptives

sel mati 72jam

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	6	18,7767	7,63691	3,11775	10,7622	26,7911	9,21	26,32
D12	6	77,7150	23,20223	9,47227	53,3658	102,0642	37,50	100,00
D10	6	47,2767	21,36017	8,72025	24,8605	69,6928	26,09	78,72
D8	6	44,8050	8,97140	3,66256	35,3901	54,2199	33,33	57,14
MP	6	36,8700	10,78441	4,40272	25,5525	48,1875	25,00	55,26
Total	30	45,0887	24,37059	4,44944	35,9885	54,1888	9,21	100,00

ANOVA

sel mati 72jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10975,280	4	2743,820	10,978	,000
Within Groups	6248,561	25	249,942		
Total	17223,841	29			

Multiple Comparisons

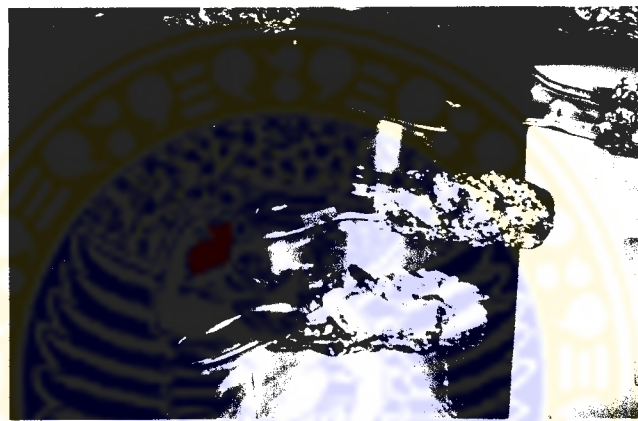
Dependent Variable: sel mati 72jam

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	D12	-58,9383(*)	9,12766	,000	-77,7371	-40,1396
	D10	-28,5000(*)	9,12766	,004	-47,2988	-9,7012
	D8	-26,0283(*)	9,12766	,009	-44,8271	-7,2296
	MP	-18,0933	9,12766	,059	-36,8921	,7054
D12	kontrol	58,9383(*)	9,12766	,000	40,1396	77,7371
	D10	30,4383(*)	9,12766	,003	11,6396	49,2371
	D8	32,9100(*)	9,12766	,001	14,1112	51,7088
	MP	40,8450(*)	9,12766	,000	22,0462	59,6438
D10	kontrol	28,5000(*)	9,12766	,004	9,7012	47,2988
	D12	-30,4383(*)	9,12766	,003	-49,2371	-11,6396
	D8	2,4717	9,12766	,789	-16,3271	21,2704
	MP	10,4067	9,12766	,265	-8,3921	29,2054
D8	kontrol	26,0283(*)	9,12766	,009	7,2296	44,8271
	D12	-32,9100(*)	9,12766	,001	-51,7088	-14,1112
	D10	-2,4717	9,12766	,789	-21,2704	16,3271
	MP	7,9350	9,12766	,393	-10,8638	26,7338
MP	kontrol	18,0933	9,12766	,059	-,7054	36,8921
	D12	-40,8450(*)	9,12766	,000	-59,6438	-22,0462
	D10	-10,4067	9,12766	,265	-29,2054	8,3921
	D8	-7,9350	9,12766	,393	-26,7338	10,8638



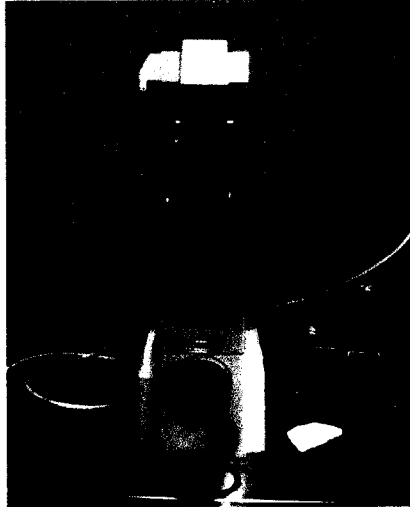
Alat-alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini



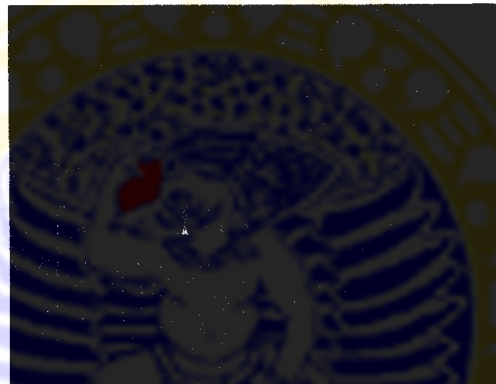
Tabung-tabung Roux yang berisi kultur sel fibroblas



Laminar flow digunakan di dalam penelitian sehingga sterilitas dapat terkontrol



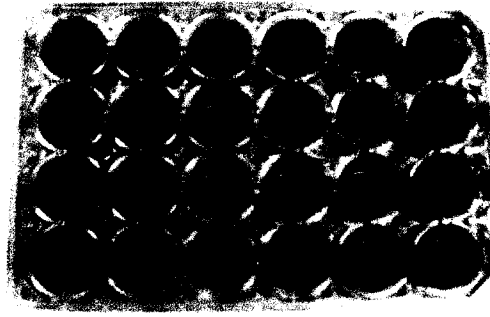
Kultur sel fibroblas dapat dilihat langsung melalui mikroskop cahaya



Hemositometer yang digunakan untuk menghitung sel fibroblas yang hidup dan mati



Peneliti sedang bekerja di dalam Pusat Veterinaria Farma



TC Microplate per 24 well yang telah diberi perlakuan



*3MIX-MP yang terdiri dari 3MIX (Metronidazol, Siprofloksasin dan Minosiklin),
Macrogol dan Propylene Gycol*