

BAB 1

PENDAHULUAN

TESIS

BAB 1 PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Masalah

Sesuai dengan perkembangan jaman manusia menghendaki peningkatan tentang perawatan gigi. Pada umumnya manusia saat ini baik pria maupun wanita sangat mementingkan penampilan sehubungan dengan profesinya, sehingga dalam perawatan gigi juga membutuhkan estetik. Salah satu bahan restorasi yang bersifat estetik dalam bidang kedokteran gigi yang biasa digunakan adalah resin komposit.

Resin komposit lebih unggul dibandingkan dengan bahan restorasi lain terutama dalam hal warna seperti gigi dan melekat dengan baik pada enamel dan dentin dengan teknik etsa, serta mempunyai kekuatan cukup tinggi. Resin komposit yang beredar di Indonesia adalah resin komposit yang polimerisasinya secara kimia dan sinar tampak (*visible light*) (Effendy, 1993). Mount dan Hume (1998) mengatakan bahwa bahan resin komposit mempunyai beberapa keuntungan antara lain : estetik baik, dapat dipoles dengan baik, bervariasi untuk keperluan yang berbeda, faktor pemakaian yang dapat diterima. Kekurangan dari resin komposit antara lain : sulit berlekatan pada dentin, hidrofilik, kurang tahan lama.

Akhir-akhir ini pemakaian resin komposit sinar tampak sangat populer sehingga menggantikan resin komposit yang berpolimerisasi secara kimia (Atmaja, 1988). Di pasaran resin komposit sinar tampak berupa kemasan satu pasta. Resin komposit sinar tampak yang digunakan sebagai bahan restorasi mempunyai kekurangan yaitu terbatasnya kedalaman pengerasan dan adanya monomer sisa (Lutz dan Phillips, 1983).

Proses polimerisasi bahan resin komposit dengan aktivasi sinar sangat dipengaruhi oleh panjang gelombang dan intensitas sinar. Sumber sinar menghasilkan intensitas yang berbeda dengan berjalannya lama pemakaian, tergantung kualitas dan usia lampu, adanya kontaminasi sisa komposit pada ujung lampu, jarak penyinaran (Annusavice, 1996). Pemaparan sinar yang tidak cukup akan menghasilkan proses polimerisasi resin komposit yang tidak sempurna (Pearson dan Longman, 1989). Derajat kuring tergantung lama penyinaran dan ketebalan bahan (Kawaguchi, 1996). Proses polimerisasi yang tidak sempurna akan menyebabkan makin tingginya konsentrasi monomer sisa yang tidak berpolimerisasi (Annusavice, 1996; Intan, 2001).

Polimerisasi yang optimal mempengaruhi stabilitas warna, sifat-sifat fisik, sifat-sifat biologis dan penampilan klinis. Informasi pabrik terhadap lama penyinaran adalah berbeda sesuai dengan warna, tergantung juga ketebalan bahan. Waktu penyinaran yang diberikan adalah waktu minimal. Untuk mendapatkan polimerisasi yang maksimal dan keberhasilan klinis, harus menggunakan intensitas sinar yang tinggi. Oleh karena itu intensitas sinar harus dievaluasi secara periodik (Annusavice, 1996).

Lama penyinaran untuk polimerisasi tergantung tipe unit kuring dan tipe kedalaman serta warna komposit. Waktu bervariasi dari 20 sampai 60 detik dengan ketebalan restorasi 2 mm. Komposit mikrofil memerlukan exposure yang lebih lama daripada komposit mikrohibrida karena partikel filler kecil lebih menyebarkan sinar. Komposit dengan warna lebih gelap atau lebih opak membutuhkan waktu eksposur lebih lama daripada komposit dengan warna yang lebih terang atau lebih translusen (Craig dan Power, 2002).

Waktu yang direkomendasikan pabrik untuk bahan penelitian ini adalah 40 detik. Menurut Agustantina (2002) voltase listrik yang digunakan alat kuring tidak pernah stabil. Apabila voltase turun menyebabkan intensitas cahaya turun. Berdasarkan hal ini estimasi waktu kuring pada penelitian ini dibuat antara 20 – 60 detik.

Menurut Annusavice (1996), lama penyinaran tidak boleh kurang dari 40 detik dan ketebalan resin tidak boleh lebih dari 2,0 sampai 2,5 mm.

Monomer sisa adalah sisa monomer yang tidak ikut terpolimerisasi (Annusavice, 1996). Monomer resin komposit yang seringkali digunakan adalah *Bis GMA (Bisphenol A-Glycidylmethacrylate)* dan *Urethane dimethacrylate (UDM)* bersama-sama dengan *Triethylene glicol dimethacrylate (TEGMA)* yang merupakan comonomer untuk mengontrol viskositas bahan yang belum tercampur (Mc. Cabe, 1994). Menurut Noort (1994) bahwa monomer dengan viskositas rendah digunakan sebagai kontrol viskositas adalah metil metakrilat (MMA), etilen glikol dimetakrilat (EDMA) dan trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA). Yulianti (1995) mengatakan bahwa monomer sisa resin komposit sinar tampak helioprogres warna abu-abu no. 36 (vivadent) rata-rata besarnya 3,15%, tanpa disinari lampu penerang dental unit.

Saliva manusia mempunyai komposisi dan pH yang bervariasi dan dapat berubah-ubah sesuai dengan kondisi badan, waktu, dirangsang atau tidak, jenis kelamin dan diet makanan saat itu. Menurut Mount dan Hume (1998) pH saliva manusia dengan resiko karies tinggi adalah 5, resiko karies sedang 6, dan resiko karies rendah 7. pH kritis untuk terjadinya karies adalah 5,5.

Resin komposit yang digunakan untuk penelitian ini akan diaplikasikan dalam rongga mulut dengan pH yang bervariasi, sedangkan pH normal adalah 6,8 – 7,2. Berdasarkan variasi pH saliva manusia, apakah resin komposit mempunyai dampak yang sama terhadap jaringan mulut. Penelitian ini menggunakan pH 7 sebagai pH normal dan pH 5,5 sebagai pH asam (penderita dengan resiko karies tinggi).

Kelarutan bahan tumpatan dapat disebabkan oleh rusaknya ikatan kimia bahan tersebut. Rusaknya ikatan kimia dipengaruhi oleh bahan pelarutnya. Derajat keasaman (pH) suatu larutan dapat mempengaruhi kecepatan melarut suatu zat. Semakin asam (pH rendah) semakin cepat melarutnya zat, sehingga semakin besar pula zat yang terlarut, demikian sebaliknya (Budi, 1993). Resin komposit merupakan suatu polimer yang mudah teroksidasi, terhidrolisis dan mengalami degradasi bila kontak dengan larutan. Senyawa yang terhidrolisis merupakan senyawa yang terlepas karena pemutusan rantai polimer dengan katalisator asam atau basa kuat, yang dapat dideteksi dengan kromatografi gas (Siswomihardjo, 1999).

Perendaman komposit dengan saliva buatan menyebabkan terlepasnya komponen yang tidak terpolimerisasi. Mekanisme pelepasan adalah proses yang lambat. Terlepasnya monomer dengan saliva buatan dari sampel resin membutuhkan periode perendaman yang lama. Derajat dan luasnya komponen yang terlepas akan lebih besar pada larutan organik daripada air (Kawaguchi, 1996).

Setiap bahan kedokteran gigi harus memenuhi syarat biokompatibilitas yang dapat diterima oleh tubuh/*host* dan tidak membahayakan penderita.

Biokompatibilitas didefinisikan sebagai ketidaksesuaian bahan atau alat terhadap jaringan dan cairan tubuh (Annusavice, 1996; Craig dan Ward, 1997) . Salah satu uji biokompatibilitas adalah uji sitotoksisitas.

Komposit yang terpolimerisasi sempurna relatif bersifat biokompatibel karena kelarutannya minimal dan bahan yang tidak bereaksi dilepaskan dalam jumlah yang kecil. Dari sudut pandang toksikologi jumlah ini adalah sangat kecil untuk dapat menyebabkan reaksi toksik. Bahan komposit yang tidak terpolimerisasi, yang terdapat dasar kavitas dapat menyebabkan inflamasi pulpa (Annusavice, 1996).

Dikatakan bahwa monomer sisa yang dilepas mula-mula berasal dari lapisan paling luar (*superfisial*) baru diikuti monomer sisa bagian dalam, karena tertutupi oleh rantai primer yang lebih panjang (Stafford and Brooks, 1985 dan Sadamori et al, 1992). *Pellicle* saliva walaupun tidak sempurna dapat menghambat difusi monomer sisa (Stafford and Brooks, 1985). Semua bahan restoratif yang berbahan dasar resin yang tersedia di pasaran terus menerus melepaskan komponennya yang cukup untuk menyebabkan pengaruh yang bersifat *lethal* atau secara *in vitro* merubah fungsi seluler setelah 2 minggu perendaman dalam saliva buatan (Wataha dkk, 1999).

Pada penelitian terdahulu tentang sitotoksisitas *in vitro* dari bahan restoratif yang mengandung resin setelah perendaman pada saliva buatan terhadap empat bahan (Tetric Ceram, Definite, Solitaire dan Clearfil AP-X) menunjukkan bahwa tanpa perendaman dalam saliva, semua bahan mempunyai sitotoksisitas lebih dari 50% dari kontrol negatif Teflon. Dan setelah 14 hari perendaman,

semua bahan kecuali Definite terus menunjukkan sitotoksitas yang besar (Wataha dkk, 1999).

Sistem pengujian sitotoksitas melibatkan tiga komponen yaitu kultur sel, bahan, parameter (cara pengujian). Kultur sel yang digunakan bisa kultur sel primer atau *cell lines* (Tang, 1999). Uji sitotoksitas dilakukan untuk mengetahui efek suatu bahan secara langsung terhadap jaringan dalam kultur sel. Banyak metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan antara lain esei MTT, agar overlay, filter molekul, pembebasan isotop kromium dan metode pewarnaan eksklusi dengan tripan biru. Esei MTT adalah suatu esei pada mikroplat yang tidak memerlukan transfer sel. Uji ini cukup sensitif, cepat, semiotomatis, dan tidak menggunakan radioisotop. Uji ini berdasar kemampaun sel hidup untuk mereduksi garam 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) yang berwarna kuning dan larut menjadi formasan biru-ungu dan tidak larut. Selanjutnya produk formasan dilarutkan dalam pelarut, dan intensitas warna diukur dengan spektrofotometer (Fazwishni dan Hadijono, 2000).

Dari penjabaran di atas timbul pemikiran apakah lamanya penyinaran dan perendaman pada saliva buatan dengan pH yang berbeda mempengaruhi jumlah monomer sisa resin komposit sinar tampak dan sitotoksitasnya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pemikiran di atas dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Apakah lama penyinaran 20, 40, 60 detik pada resin komposit sinar tampak akan menurunkan kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.

2. Apakah perendaman resin komposit sinar tampak pada saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 akan menurunkan kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh peningkatan lama penyinaran resin komposit sinar tampak yang paling sesuai dari aspek kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.
2. Untuk mengetahui pengaruh perendaman resin komposit sinar tampak pada saliva buatan dengan pH yang berbeda terhadap kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Dapat diperoleh informasi tentang adanya sifat sitotoksitas dari resin komposit sinar tampak sehubungan dengan pH saliva, sehingga perlu antisipasi dalam pemakaian bahan tersebut di klinik.
- b. Dapat sebagai informasi bagi pemakai resin komposit untuk mempertimbangkan lama penyinaran agar mendapatkan proses polimerisasi dengan sempurna, sehingga dapat mengurangi jumlah monomer sisa.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

TESIS

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Resin Komposit

2.1.1 Pengertian Bahan Restorasi Resin Komposit

Istilah resin komposit menurut Phillips (1991) adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran dua atau lebih bahan yang mempunyai sifat kimia yang berbeda, dan kedua bahan tersebut dapat berikatan satu sama lain sehingga diperoleh hasil akhir yang lebih baik. Resin komposit adalah kombinasi fase organik dan anorganik, digunakan untuk restorasi gigi (Craig dan Powers, 2002).

Perkembangan komposit kira-kira tahun 1960, menghasilkan sifat-sifat mekanis yang lebih tinggi, koefisien ekspansi lebih rendah, perubahan dimensi lebih kecil pada waktu setting, resistensi pemakaian yang lebih tinggi. Mula-mula komposit dikembangkan untuk restorasi klas 3 sampai klas 5 gigi anterior yang sangat mementingkan estetik, dan klas 1 dengan tekanan oklusal menengah. Pada tahun 1990, resin komposit diaplikasikan untuk restorasi posterior klas 2 dan 6 (MOD) dengan perkembangan teknik dan modifikasi bahan (Craig dan Powers, 2002).

Menurut Annusavice (1996) bahwa berdasarkan aktivasinya resin komposit dibagi menjadi komposit diaktivasi secara kimia dan komposit diaktivasi oleh sinar. Bahan yang dikuring dengan sinar berupa pasta tunggal, tidak membutuhkan pencampuran, waktu kerja panjang, pengerasan lebih cepat dengan sinar.

2.1.2 Komposisi Bahan Restorasi Resin Komposit

Semua resin komposit terdiri dari resin dan pengisi (*filler*). Komposisi dari resin mungkin berbeda dalam beberapa merk yang terdapat di pasaran, tetapi pada dasarnya semua resin mengandung metakrilat atau akrilat yang dimodifikasi. Monomer yang sering kali digunakan adalah Bis GMA dan Urethane dimethacrylate (UDM) bersama-sama dengan Triethylene glycol dimethacrylate (TEGMA) yang merupakan comonomer untuk mengontrol viskositas dari bahan yang belum tercampur (Mc. Cabe, 1994).

Menurut Combe (1992), komposisi bahan restorasi resin komposit modern terdiri dari :

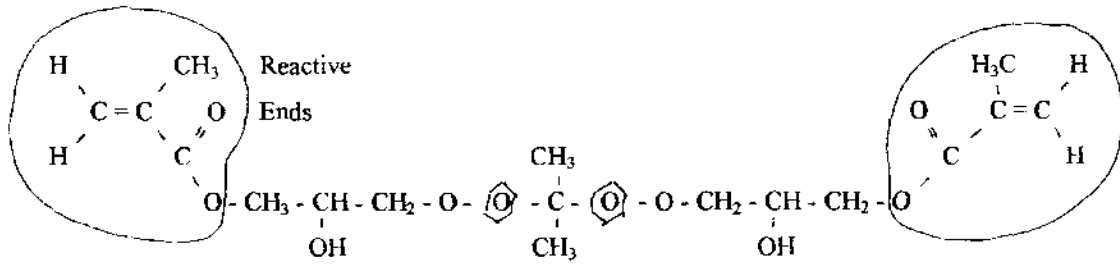
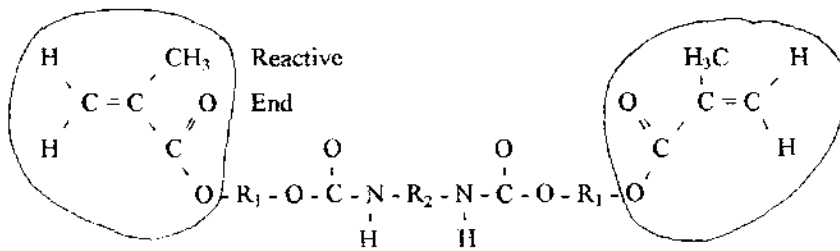
- a. Monomer utama.
- b. Monomer pengencer.
- c. Bahan pengisi anorganik.
- d. Bahan pengikat/penggabung.
- e. Bahan inisiator.
- f. Inhibitor.
- g. Stabilisator.

Menurut Craig dan Powers (2002), resin komposit terdiri dari empat komponen besar : matriks polimer organik, bahan pengisi anorganik, *coupling agent* dan sistem inisiator-aktivator. Matriks polimer organik pada kebanyakan komposit berupa oligomer aromatik atau *urethane diacrylate*. Oligomer adalah cairan kental (*viscous*), viskositas dapat diturunkan dengan penambahan *diluent* monomer. Menurut Noort (1996), bahan pengontrol viskositas adalah metil

metakrilat (MMA), etilene glikol dimetakrilat (EDMA), trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA).

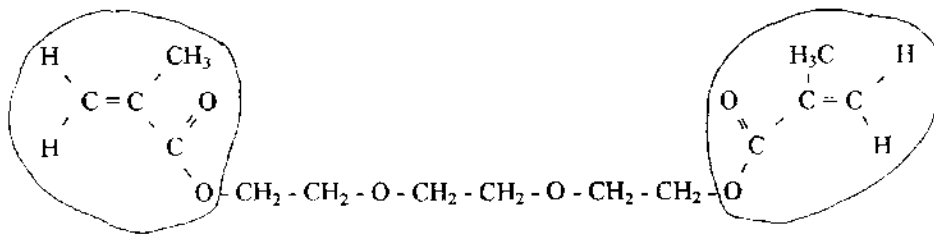
Resin yang digunakan adalah aromatik dimetakrilat, diketahui sebagai Bis-GMA merupakan reaksi *bisphenol A* dan *glycidyl methacrylate*. Akhir-akhir ini banyak menggunakan jenis metane dimetakrilat. Ujung monomer resin ini berupa kelompok metakrilat, dapat berpolimerisasi dengan akrilik konvensional melalui proses radikal bebas. Mula-mula sinar ultraviolet digunakan untuk mengawali polimerisasi tetapi sinar tampak dengan aktivasi *camphorquinone* lebih sering digunakan (Noort, 1994).

Bis GMA adalah dwifungsional metakrilat yang terbentuk melalui reaksi antara Bisphenol A dan Glycidylmethacrylate. Bis GMA mempunyai dua kelompok phenol yang menyebabkan molekul menjadi kaku bila kelompok hidroksil membuat ikatan hidrogen secara inter molekuler. Kelompok-kelompok inilah yang menyebabkan Bis GMA mempunyai konsistensi yang tinggi pada suhu kamar. Selain Bis GMA, Uretan dimetakrilat (UDM) juga digunakan sebagai polimer dwifungsional. Seperti Bis GMA, konsistensi dari UDM juga tinggi (Sturdevant, 1995). Pencampuran Bis GMA dan UDM dengan konsistensi demikian menyebabkan pencampuran bahan pengisi (*filler*) menjadi sukar. Maka, pabrik menambah cairan monomer seperti TEGMA untuk menurunkan viskositas. Pencampuran tiga bagian dari Bis GMA dan satu bagian TEGMA biasanya dicampur dengan bahan pengisi (*filler*) (Cabe, 1994).

Bis GMA (*Bisphenol Glycidil Methacrylate*)

R_1 = Aliphatic species

R_2 = Aromatic species

UDM (*Urethane Dimethacrylate*)TEGMA (*Triethylene Glycol Dimethacrylate*)

Gambar 2.1 Rumus Bangun Bis GMA, UDM dan TEGMA (dikutip dari Sturdevant, 1995).

2.1.3 Polimerisasi Resin Komposit Sinar Tampak

Resin komposit sinar tampak didapatkan dalam bentuk pasta tunggal yang dimasukkan ke dalam syringe. Sistem inisiasi radikal bebas yang terdiri dari molekul *photoinitiator* dan aktivator dari kelompok amin sudah terdapat dalam satu pasta tersebut. Bila kedua komponen tersebut tidak terpapar sinar tampak, maka tidak akan terjadi interaksi di antara keduanya. Adanya paparan sinar tampak dengan panjang gelombang yang benar (kira-kira 468 nm) menghasilkan keadaan eksitasi dari *photoinitiator* dan berinteraksi dengan amin untuk membentuk radikal bebas yang mengawali polimerisasi (Annusavice, 1996).

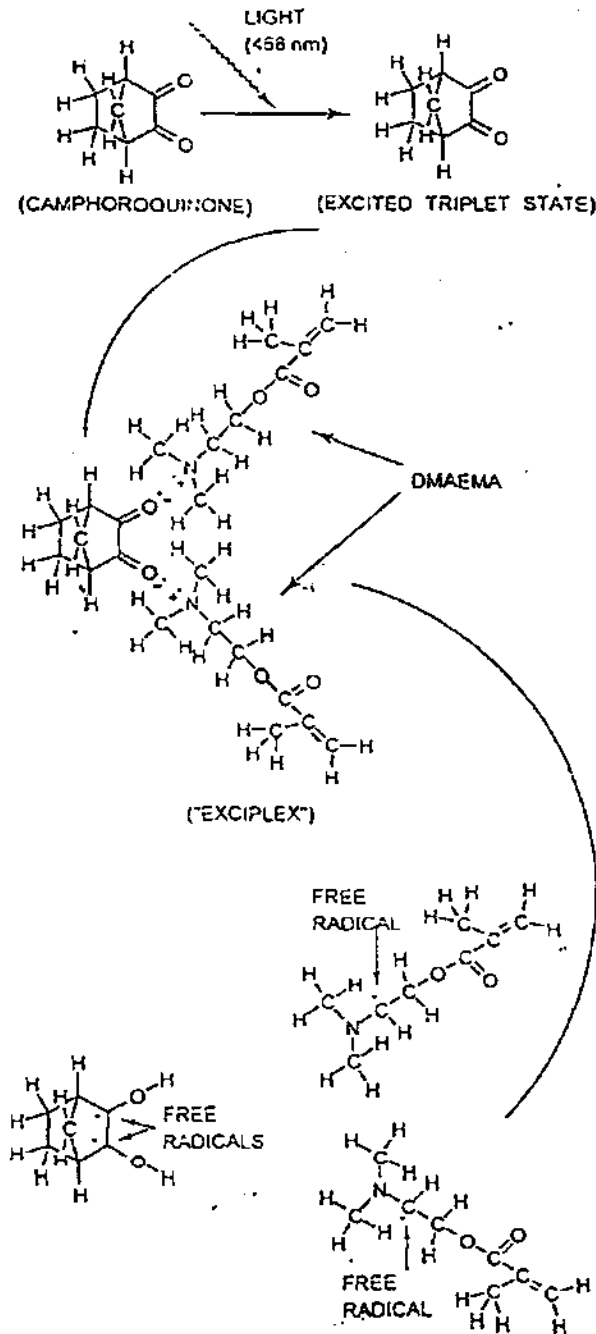
Photoinitiator yang biasa digunakan adalah kamforkuinon, yang mempunyai absorpsi diantara panjang gelombang 400 - 500 nm yaitu di zona warna biru dari spektrum sinar tampak. Inisiator ini didapatkan kurang lebih 0,2% berat (wt%). Di dalam pasta terdapat sejumlah *accelerator amine* yang sesuai untuk berinteraksi dengan kamforkuinon yaitu 0,15 wt% dimetilaminoetil metakrilat (Anusavice, 1996).

Resin komposit berpolimerisasi dengan mekanisme radikal bebas. Resin komposit yang berpolimerisasi dengan sinar tampak, tahap aktivasi dimulai dengan terjadinya dekomposisi pada inisiator keton dan amin yang sensitif terhadap sinar tampak, membentuk radikal bebas. Jumlah radikal bebas yang terbentuk akan meningkatkan derajat polimerisasi, oleh karena itu bahan pereduksi selalu ditambahkan ke dalam resin komposit sinar tampak (Williams dan Cuningham, 1979).

Menurut Taira dkk (1988) cit Yuliati (1995), senyawa golongan α diketon misalnya kamforkuinon akan menyerap sinar biru dengan panjang gelombang 420

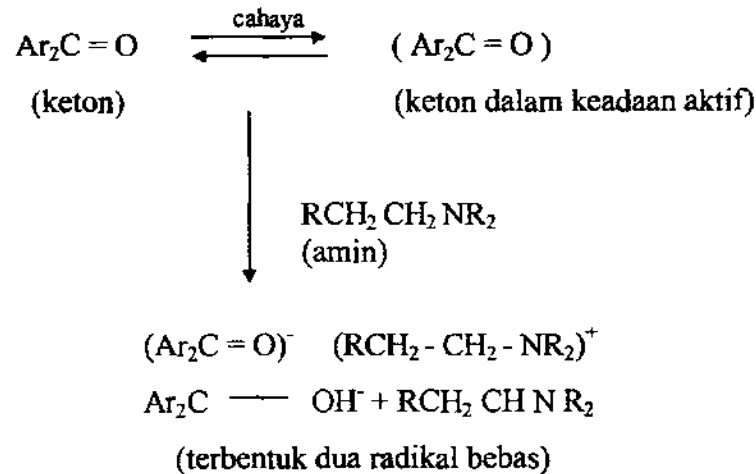


420 - 450 nm, menimbulkan keadaan eksitasi. Keton dapat mengeluarkan elektron dari bahan pereduksi (misalnya amin) untuk menghasilkan dua radikal bebas yaitu satu dari derivat keton dan satu lagi dari bahan pereduksi (amin).



Gambar 2.2 Aktivasi sinar diinisiasi dengan transfer energi terhadap diketon (champhoroquinone). Triplet yang tereksitasi menarik molekul DMAEMA dan membentuk exciplexes (misal : eksitasi yang kompleks) yang mengubah molekul champhoroquinone dan DMAEMA pada radikal bebas (dikutip dari Anusavice, 1996).

Menurut Combe (1992), aktivasi sinar tampak dari bahan komposit, mempergunakan reaksi antara senyawa golongan α diketon dan suatu amin, serta adanya sinar cahaya tampak dengan panjang gelombang tertentu yang reaksinya sebagai berikut :



Hal ini sesuai dengan pendapat Craig dan Ward (1997) bahwa reaksi dapat dipercepat oleh adanya suatu amina organik yang terdiri dari suatu karbon berikatan rangkap.

Adanya aktivasi sinar akan menghasilkan suatu keadaan yang dapat merangsang bahan fotoinisiator, kamforquinon, dan akan berinteraksi dengan amina untuk membentuk radikal bebas yang mengawali proses polimerisasi. Makin banyak radikal bebas yang terbentuk akan makin banyak pertumbuhan rantai polimer. Selanjutnya makin banyak jumlah pengulangan unit polimer maka derajat polimerisasi juga akan makin meningkat (Combe, 1992; Annusavice, 1996).

Menurut Combe (1992), proses polimerisasi resin komposit terbagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap inisiasi, propagasi, dan terminasi.

a. Tahap inisiasi.

Pada tahap ini terbentuk radikal bebas karena pecahnya molekul, dapat terjadi karena pengaruh panas, sinar ataupun reaksi kimia.

Unsur yang peka terhadap suhu adalah peroksida, namun juga peka terhadap aktifitas energi dari bahan kimia. Radikal bebas pada tahap inisiasi ini mengandung elektron bebas yang sangat reaktif dan mampu memecah ikatan ganda monomer sehingga terbentuk radikal bebas.

b. Tahap propagasi.

Terjadi karena monomer yang diaktifkan saling berikatan dan ditambah monomer pengganti, demikian seterusnya sampai tercapai tahap terminasi.

c. Tahap terminasi.

Tahap ini terjadi karena adanya reaksi antara radikal bebas dua rantai yang sedang tumbuh sehingga terbentuk molekul yang stabil.

2.1.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Proses Polimerisasi Resin Komposit Sinar Tampak

a. Jarak antara sumber sinar terhadap permukaan bahan

Mount dan Hume (1998) mengatakan bahwa sumber sinar harus sedekat mungkin pada permukaan restorasi, dengan jarak yang dianjurkan tidak melebihi 4 mm dari permukaan bahan. Ujung kuring harus dijaga setidaknya berjarak 1 mm dari permukaan bahan untuk mendapatkan penetrasi yang optimum (Craig dan Powers, 2002). Noort (1994) mengatakan bahwa ujung kuring harus ditempatkan sedekat mungkin dengan permukaan restorasi, tetapi harus dipastikan bahwa

jarak yang sedemikian dekat tidak menyebabkan ujung alat kuring terkontaminasi bahan, yang dapat menurunkan efisiensi kuring.

Craig dan Peyton (1982) menyatakan bahwa jarak sumber sinar berpengaruh terhadap kekerasan permukaan bawah (jauh dari sumber sinar) masa resin komposit, tetapi secara umum tidak mempengaruhi kekerasan permukaan atas (dekat dengan sumber sinar) masa resin komposit sinar tampak.

b. Lama penyinaran

Terdapat tendensi bahwa pabrik merekomendasikan lama penyinaran sedikitnya 20 detik. Lama penyinaran harus paling sedikit 40 - 60 detik bila komposit diaplikasikan sebagai restorasi yang luas. Memperpanjang lama penyinaran tidak berarti kedalaman cure menjadi lebih besar. Lama penyinaran lebih dari 60 detik cenderung tidak efisien (Noort, 1994).

Craig dan Powers (2002) mengatakan bahwa standart lama penyinaran untuk sinar tampak adalah 20 detik. Waktu ini cukup untuk cure resin yang berwarna terang dan tipis yaitu 2 – 2,5 mm. Penyinaran 40 detik meningkatkan derajat kuring pada semua kedalaman, tetapi ini diperlukan untuk memperoleh kuring yang cukup dengan warna yang lebih gelap.

Lama penyinaran untuk polimerisasi tergantung tipe unit kuring dan tipe, kedalaman serta warna komposit. Waktu bervariasi dari 20 sampai 60 detik untuk ketebalan restorasi 2 mm. Komposit mikrofil membutuhkan penyinaran lebih lama daripada komposit mikrohibrid

karena partikel pengisinya kecil membiaskan banyak sinar. Warna yang lebih gelap atau lebih opak membutuhkan penyinaran lebih lama (60 detik) daripada warna lebih terang (translusen).

c. Intensitas sinar

Kilian (1979) cit Leksono (1993) menyatakan bahwa besarnya intensitas sinar adalah energi yang tiba per satuan waktu per satuan luas. Dengan demikian makin besar intensitas maka makin luas daerah yang terkena sinar, sehingga akan semakin banyak bahan champhorquinon yang terkena sinar.

Blakenau (1983) mengatakan bahwa untuk mendapatkan proses polimerisasi yang lebih sempurna maka diperlukan penyinaran resin dari sumber sinar yang lebih intensif, sehingga dengan intensitas sinar yang meningkat akan diikuti makin kerasnya bahan restorasi. Intensitas sinar pada permukaan resin merupakan faktor kritis dalam kelengkapan proses curing baik di bagian permukaan maupun bagian dalam.

d. Ketebalan bahan

Secara umum bahan restoratif komposit dapat berkuring melalui inisiasi sinar tampak hingga ketebalan 2 mm (Annusavice, 1996) antara 2 - 2,5 mm (Craig dan Ward, 1997), 2 - 3 mm untuk resin komposit mikrofil dan 4 - 5 mm untuk resin hibrida (Mount dan Hume, 1998).

e. Warna

Warna bahan restorasi yang berwarna lebih gelap mutlak memerlukan perpanjangan lama penyinaran. Warna yang lebih terang akan dapat mencapai kedalaman kuring yang lebih besar (Mount dan Hume, 1998).

2.2 Monomer Sisa

Monomer sisa adalah senyawa yang tidak bereaksi pada akhir polimerisasi (Siswomihardjo, 1999). Menurut penelitian Effendy (1993) mengatakan bahwa dengan menurunnya kadar benzoil peroksida pada pasta katalis resin komposit yang berpolimerisasi secara kimia menyebabkan penurunan massa molekul relatif, kekerasan permukaan, biokompatibilitas dan peningkatan jumlah monomer sisa serta memperpanjang waktu pengerasan. Sedangkan menurut Yuliati (1995), resin komposit sinar tampak yang telah terkena lampu penerang dental unit, kemudian dikuring terjadi peningkatan jumlah monomer sisa.

Proses polimerisasi tidak pernah sempurna karena masih ada monomer yang tidak dapat bereaksi menjadi polimer, makin besar jumlah monomer sisa maka derajat polimerisasi dan massa molekul relatifnya makin menurun, sehingga sifat fisik dan mekanik menurun (Phillips, 1991).

Monomer yang digunakan dalam resin komposit sinar tampak adalah Bis GMA atau Urethane dimethacrylate yang mempunyai viskositas tinggi karena berat molekulnya tinggi. Untuk menurunkan viskositasnya ditambahkan methyl methacrylate (MMA), ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) dan triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA) (Noort, 1994). Monomer sisa dari resin

komposit belum diketahui, tetapi diperkirakan adalah monomer resin komposit yang tidak terpolimerisasi.

Wataha dkk (1999) mengatakan bahwa bahan dental berbahan dasar resin melepaskan substansinya yang mempunyai liabilitas biologik, tetapi kadang-kadang metode mutakhir untuk mendeteksi substansi ini tidak dapat terdeteksi secara adekuat sifat-sifat biologisnya sehubungan dengan konsentrasinya. Mohsen dkk (1998) mengatakan bahwa komponen primer yang banyak dilepaskan dari resin komposit UDMA adalah monomer UDMA, kemudian diikuti sejumlah kecil 1,6 hexane diol methacrylate, champhorquinone dan 2,4,6-tritertiarybutyl phenol.

Lebih lanjut dikatakan oleh Wataha dkk (1999) bahwa bahan dasar resin menunjukkan efek sitotoksik dan perubahan fungsi seluler secara in vitro dimana dengan HPLC tidak dapat terdeteksi jumlah pelepasan substansinya. Hal ini sesuai dengan penelitian Lefebure dkk (1996) bahwa segera setelah polimerisasi, komponen yang digunakan dalam resin gigi akan terelute segera ke lingkungannya dan merubah proses metabolik berbagai sel.

Monomer sisa terdiri dari monomer yang dapat terekstrak dan tidak dapat terekstrak. Monomer yang dapat terekstrak akan terlarut dari bahan. Huget dkk cit Sadamori dkk (1992) menunjukkan bahwa pelepasan monomer sisa dari bahan secara in vitro melebihi dari 0,3%. Dalam penelitian in vivo, monomer sisa dalam bahan akan menurun seiring dengan peningkatan periode pemakaian.

2.3 Saliva Buatan

Saliva adalah suatu cairan mulut yang kompleks yang terdiri dari campuran sekresi dari kelenjar ludah besar dan kecil yang ada pada mukosa mulut (Soemarijah, 1985).

Komposisi saliva terdiri dari : air 99,43%, garam-garam 0,22%, zat-zat organik 0,22%, dan enzim-enzim 0,14%. Elektrolit-elektrolit utama yang terdapat dalam saliva adalah kalsium, fosfat, bikarbonat, klorida, natrium, dan kalium. Elektrolit lain adalah fluor, magnesium, iodida, sulfat, tiosianat, dan sulfosiamida (Harris, 1968).

Saliva adalah buffer yang baik, sebagian besar terdiri dari NaHCO_3 , $-\text{CO}_2$, fosfat. Biasanya pH netral (6-7), tetapi variasi keasaman lingkungan mulut mungkin terjadi sebagai hasil dari intake makanan dan minuman. Untuk pemeriksaan laboratoris, lingkungan rongga mulut ditirukan dengan saliva buatan dengan berbagai komposisi (Williams, 1990).

Dalam penelitian ini, saliva buatan yang digunakan adalah saliva buatan menurut Hudget et al, 1980. Komposisi saliva buatan tersebut adalah :

Na Cl	36,0 gr
.. K Cl	1,69 gr
Ca Cl ₂	0,956 gr
.. Na HCO ₃	0,850 gr
Destiled H ₂ O	400 cc

2.4 pH Larutan

pH adalah derajat keasaman suatu larutan, pada keadaan netral dinyatakan dalam angka 7, bila asam dinyatakan kurang dari 7 dan bila basa dinyatakan lebih dari 7 (Amerongen, 1987). Derajat keasaman atau pH adalah logaritma negatif dari konsentrasi ion hidrogen (H^+) dalam larutan (Basset, 1979).

Derajat keasaman (pH) larutan dapat mempengaruhi kecepatan melarut suatu zat yaitu semakin rendah pH semakin cepat kecepatan melarut suatu zat yang mengakibatkan semakin besar pula zat yang terlarut, demikian sebaliknya (Budi, 1993).

Derajat keasaman (pH) ludah sangat dipengaruhi oleh adanya ion bikarbonat yang akan berpengaruh terhadap sistem buffer dari ludah. Pada keadaan istirahat konsentrasi total bikarbonat adalah rendah sehingga kapasitas buffer yang merupakan indikasi pH akan rendah juga (Roukema, 1993).

Derajat keasaman saliva dalam keadaan normal antara 5,6 sampai 8,0 dengan rata-rata 6,7. Diet kaya karbohidrat menurunkan kapasitas buffer sedangkan diet kaya protein mempunyai efek menaikkan.

Beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya perubahan pH saliva adalah :

- a. Adanya asam sebagai hasil fermentasi karbohidrat oleh bakteri acidogenik dapat menurunkan pH saliva.
- b. *Buffer capacity* pada saliva dapat menetralkan suasana asam menjadi normal setelah beberapa waktu.
- c. Makanan pengaruh protein, karbohidrat dan sayur-sayuran pada *Buffer* saliva orang normal menunjukkan bahwa pengaruh karbohidrat dapat menurunkan pH saliva.

- d. Faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya variasi dari pH saliva, yaitu :
kelelahan, pengunyahan, dan aroma makanan.

2.5 Kromatografi Gas

Kromatografi gas adalah suatu teknik pemisahan campuran bahan tertentu. Pertama kali diperkenalkan pada tahun 1903, yaitu untuk melakukan pemisahan senyawa yang berwarna. Nama kromatografi mengandung makna warna, tetapi pembatasan untuk senyawa yang berwarna ini tidak bertahan lama karena dalam perkembangannya, pemisahan secara kromatografi dapat digunakan bagi senyawa yang tidak berwarna, termasuk gas (Sastrohamidjojo, 1991).

Pada dasarnya semua metode kromatografi menggunakan dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Penggolongan metode kromatografi umumnya

- a. fase gerak zat cair - fase diam padat = contoh kromatografi lapis tipis.
- b. fase gerak gas - fase diam padat = contoh kromatografi gas padat.
- c. fase gerak zat cair - fase diam cair = contoh kromatografi kertas.
- d. fase gerak gas - fase diam cair = contoh kromatografi gas cair.

Dalam kromatografi gas, fase gerak berupa gas lembam seperti helium, nitrogen, argon atau hidrogen yang digerakkan dengan tekanan melalui pipa yang berisi fase diam. Untuk pemisahan secara kromatografi, fase diam cair berada sebagai lapisan tipis yang diserap secara kimia oleh penyangga padat yang dikemas di dalam pipa logam, kaca, atau plastik yang bergaris tengah kecil (2 - 8 mm) dan panjang (1 - 10 m) disebut kolom kemas. Fase diam berupa film tipis (0,1 - 2 μm) yang melekat dalam pipa logam kapiler atau pipa kaca kapiler

bergaris tengah sangat kecil (0,2 - 1 mm) dan sangat panjang (10 - 100 m) (Padmawinata, 1991).

Kromatografi gas merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam-jam untuk campuran yang mengandung 500 - 1000 komponen.

Komponen campuran dapat diidentifikasi dengan menggunakan waktu tambat (waktu retensi) yang khas pada kondisi yang tepat. Waktu tambat ialah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan dalam kolom yang diukur mulai dari titik penyuntikan sampai titik maksimum puncak dan sangat khas untuk kondisi dan senyawa tertentu.

Waktu retensi memberikan informasi yang berguna untuk mengidentifikasi senyawa, dan luas puncak memberikan informasi kuantitatif yang diperlukan yang dapat dilihat pada jejak pencatat pada kromatogram.

Kromatografi gas yang digunakan untuk pengukuran monomer sisa dari merek Hewlet Packard dengan kondisi :

- a. Jenis kolom = HP₅ dengan fasa diam crosslinked methyl silicone gum panjang 3 m
- b. Suhu kolom = 50°C
- c. Jenis detektor = FID (Flame Ionization Detector)
- d. Suhu detektor = 250°C
- e. Suhu injektor = 100°C
- f. Gas pembawa = helium
- g. Injeksi bahan = 1 µl.



Pemisahan monomer sisa resin komposit sinar tampak yang terlepas dalam saliva buatan yaitu dengan cara ekstraksi. Ekstraksi menggunakan larutan hexan yang berfungsi mengikat monomer sisa. Kemudian ekstrak disuntikkan ke gerbang suntik pada kromatograph.

2.6 Biokompatibilitas

Sejak tahun 1960 istilah biokompatibilitas jarang digunakan, yang sering digunakan adalah toksisitas. Biokompatibilitas menurut *Dorland 's Medical Dictionary* adalah keadaan yang harmonis dan tidak mempunyai sifat toksik yang diukur berdasarkan sitotoksitas lokal, respon sistemik, alergi dan karsinogenitas.

Salah satu parameter yang penting diperhatikan dalam pemilihan bahan baik untuk bidang medis maupun Kedokteran Gigi adalah sifat biokompatibilitasnya (Glantz, 1998). Suatu bahan mempunyai sifat biokompatibilitas yang lebih baik apabila terdapat kesesuaian yang baik antara bahan atau alat dengan jaringan dan cairan tubuh (Craig, 1997).

Test biokompatibilitas menurut Anusavice (1996) diklasifikasikan dalam 3 tingkatan yaitu :

- a. Uji pendahuluan (*primary test*) ialah 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 di evaluasi berdasarkan potensi radang atau imunogenik termasuk didalamnya adalah uji toksisitas sistemik, uji toksisitas inhalasi, uji iritasi kulit, uji hipersensitivitas dan implantasi.

- c. Uji aplikasi klinis yaitu bahan dievaluasi sesuai dengan pemakaian secara klinis.

Untuk penggunaan bahan di bidang kedokteran gigi, pengujian biokompatibilitas bahan sudah ditentukan oleh *American Dental Association/ American National Standard Institute* yang dicantumkan di dalam *Recommended Standard Practices For Evaluation Of Dental Materials* (Stanford, 1980 ; Craig, 1997). Disebutkan bahwa untuk menguji biokompatibilitas bahan, dilakukan beberapa uji antara lain :

- a. Uji toksisitas
- b. Uji karsinogenitas
- c. Uji sensitivitas

Efek toksik dari suatu bahan/zat dapat muncul di dalam tubuh berupa perubahan struktur sel, jaringan, atau organ dengan akibat dapat terjadinya gangguan faali. Efek toksik juga dapat mempengaruhi komponen subselluler dan molekuler, misalnya efek mutagenik, efek karsinogenik atau efek teratogenik (Ngatidjan, 1991).

Pada umumnya rangkaian pemeriksaan toksisitas yang baku tidak selalu dilakukan terhadap suatu obat atau bahan kimia sebelum dipasarkan pemakaiannya. Namun demikian OECD (*Organization For Economic Cooperation and Development*) telah menyusun standart pemeriksaan laboratoris untuk menguji toksisitas bahan sebelum dipasarkan. Pemeriksaan tersebut dapat dibagi menjadi 4 macam berdasarkan pada lamanya pemaparan dan dosis bahan, yaitu :

- a. Toksisitas akut, pemeriksaan dilakukan setelah 24 jam.
- b. Toksisitas subakut, pemeriksaan dilakukan setelah 14 hari.
- c. Toksisitas subkronik, pemeriksaan dilakukan setelah 90 hari.
- d. Toksisitas kronik, pemeriksaan dilakukan setelah 6 bulan - 2 tahun.

(Sastromihardjo, 1999).

Pada umumnya biokompatibilitas dapat diukur berdasarkan sitotoksisitas lokal, respon sistemik, alergenitas dan karsinogenitas (Annusavice, 1996).

Persyaratan biokompatibilitas bahan kedokteran gigi meliputi :

1. Tidak membahayakan jaringan lunak dan pulpa.
2. Tidak mengandung substansi toksik yang dapat terlepas dan diabsorpsi ke dalam sirkulasi sehingga menyebabkan suatu respon toksik secara sistemik.
3. Bebas dari bahan yang dapat berpotensi menimbulkan reaksi alergi.
4. Tidak berpotensi sebagai mutagen atau karsinogen.

2.6.1 Kultur Sel

Untuk menguji toksisitas dari bahan restorasi dapat menggunakan kultur sel. Berdasarkan sifat pertumbuhannya, metode kultur sel dapat dibagi menjadi :
(Suprpto, 1999)

- a. Kultur primer (*primary cultures*).

Yaitu suatu kultur sel yang berasal langsung dari organisme asalnya. Organ yang banyak mengandung jaringan ikat, umumnya pertumbuhannya kurang baik. Ginjal merupakan organ yang mengandung jaringan ikat sedikit, oleh karena itu banyak digunakan sebagai kultur primer.

b. Kultur sel diploid (*Diploid cell cultures*).

Yaitu kultur sel berupa strain dari sel yang diperoleh dengan jalan mem-
pasasekan berkali-kali kultur sel primer dan pada umumnya akan mati setelah
pasase mencapai 50 - 70 kali.

c. Kultur *cell lines* atau sel kontinyu (*continuous cell culture*)

Yaitu berasal dari kultur primer yang mengalami perubahan sifat setelah
berkali-kali dipasasekan dan lolos dari *crisis period* atau *intermediary stage*.
Cell lines dapat disub-kultur berulang-ulang. *Cell lines* yang banyak
digunakan adalah sel L-929 yang berasal dari fibroblas paru-paru tikus, sel
BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster.

Untuk mendapatkan *cell lines* dapat melalui :

- pertumbuhan sel setelah melewati periode krisis.
- pertumbuhan sel yang berasal dari jaringan tumor ganas.
- pertumbuhan sel yang telah dirubah sifatnya dengan menggunakan virus onkogenik.

Kultur sel primer pada umumnya lebih sensitif terhadap efek toksik bahan kimia daripada *cell lines*, kurang homogen dan cenderung cepat mati bila dikultur.

Cell lines mempunyai keuntungan yaitu : pasase dapat dilakukan lebih dari 50 - 70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi (Freshney, 1987). Metode kultur sel dengan *cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan-bahan dan obat-obatan yang banyak dipakai di bidang kedokteran gigi.

2.6.2 Uji Sitotoksisitas

Uji sitotoksisitas menilai sitotoksisitas bahan dengan mengukur jumlah sel atau pertumbuhan sel setelah terpapar oleh bahan sel ditempatkan pada *well*/sumuran kultur sel. Densitas sel dapat dinilai secara kualitatif, semi kuantitatif atau kuantitatif (Craig dan Powers, 2002).

Uji sitotoksisitas adalah bagian dari evaluasi bahan kedokteran gigi dan diperlukan untuk prosedur skrining yang standart. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Terdapat berbagai metode untuk menilai sitotoksisitas suatu bahan antara lain esei MTT, agar overlay, filter molekul, pembebasan isotope kromium, dan metode pewarnaan eksklusi tripan biru (Fazwishni & Hadijono, 2000).

Beberapa tes *in vitro* tentang biokompatibilitas menggunakan biosintesis atau aktivitas enzim dari sel untuk menilai respon sitotoksis. Tes pengukuran sintesis DNA untuk sintesis protein adalah contoh umum tipe tes ini. Sintesis DNA atau protein oleh sel dianalisis dengan menambahkan prekursor radioisotop (^3H - thymitidme atau ^3H -leucine). Tes enzimatik untuk sitotoksisitas yang umum digunakan adalah tes MTT (Craig dan Powers, 2002).

Esei MTT didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazon biru yang tidak larut (Kasugai, Hasegawa, Ogura, 1990).

Produksi formazan dapat dihitung dengan melarutkannya dan mengukur densitas optik dari larutan yang dihasilkan (Craig dan Powers, 2002). Reaksi

warna biru digunakan sebagai ukuran dari sel hidup. Jumlah sel hidup dapat diukur sebagai hasil produk MTT dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm (Kasugai, 1990. Fazwishni dan Hadijono, 2000).

Untuk mengukur intensitas warna digunakan pembaca mikroplat 96 sumur yang biasa digunakan untuk ELISA. Jumlah formasan yang dihasilkan diukur setelah dilarutkan, berbanding secara proporsional dengan jumlah sel, walaupun absorbansi absolut berbeda antara berbagai galur sel. Makin pekat warnanya, makin tinggi nilai absorbansinya, dan ini berarti makin banyak jumlah sel hidup (Fazwhisni dan Hadijono, 2000).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HEPOTESIS PENELITIAN

TESIS

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Resin komposit adalah bahan yang merupakan kombinasi fase organik dan anorganik (Craig dan Powers, 2002). Resin adalah komponen kimia aktif dari komposit. Monomer yang sangat umum digunakan untuk resin adalah Bis-GMA yang merupakan derivat dari reaksi Bisphenol-A dan *Glycidylmethacrylate*. Berat molekulnya lebih tinggi daripada metil metakrilat, berfungsi membantu mengurangi *shrinkage* pada waktu polimerisasi. Bahan ini mempunyai viskositas tinggi. Untuk menurunkan viskositasnya ditambahkan monomer pengontrol viskositas seperti metil metakrilat (MMA), etilen glikol dimetakrilat (EDMA), trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) (Noort, 1994).

Proses polimerisasi bahan resin komposit dengan aktivasi sinar sangat dipengaruhi oleh panjang gelombang dan intensitas sinar (Annusavice, 1996). Polimerisasi dari komposit sinar tergantung jarak dari komposit ke sumber sinar dan lama paparan sinar (Craig dan Powers, 2002). Intensitas yang menurun dapat menyebabkan proses polimerisasi bahan restorasi yang mengandung resin tidak dapat berjalan dengan sempurna (Pearson dan Longman, 1989).

Lama penyinaran untuk polimerisasi sangat tergantung pada tipe unit kuring dan tipe kedalaman serta warna komposit. Waktu bervariasi dari 20 sampai 60 detik untuk ketebalan restorasi 2 mm (Craig dan Powers, 2002). Menurut Annusavice (1996) bahwa perpanjangan lama penyinaran bahan resin komposit untuk mengkompensasi adanya penurunan intensitas sinar yang dapat dilakukan dua sampai tiga kalinya. Lama penyinaran akan menghasilkan kalori

yang mempercepat terjadinya reaksi termo-kimia (Killian, 1981 cit Leksono 1993).

Proses polimerisasi yang tidak adekuat akan meningkatkan konsentrasi monomer sisa yang tidak ikut berpolimerisasi (Annusavice, 1996; Intan, 2001). Konsentrasi monomer sisa yang tinggi bersifat sitotoksitas terhadap kultur sel dari fibroblas/BHK₂₁ (Effendi, 1993; Andani, 1999). Proses polimerisasi yang tidak sempurna meninggalkan monomer yang mudah bereaksi dengan lingkungan yang basah dan ikatan ganda yang berada dalam bahan mudah terpengaruh oleh reaksi hidrolisis atau oksidasi sehingga mudah terjadi degradasi (Yuliati, 1995). Reaksi hidrolisis terjadi karena pemutusan rantai polimer atau monomer sisa oleh karena asam atau basa kuat. Hal ini didukung oleh pendapat Siswomihardjo (1999) bahwa terjadi proses hidrolisis atau terlepasnya salah satu komponen bila bahan berada dalam lingkungan rongga mulut.

Komponen utama dari komposit bersifat sitotoksik jika digunakan dalam bentuk murni, tetapi liabilitas biologi dari komposit tergantung pelepasan komponen tersebut dari komposit. Jumlah pelepasan tergantung tipe komposit dan metode serta efisiensi dari kuring komposit. Efek pelepasan komponen komposit terhadap jaringan mulut belum diketahui dengan pasti, namun belum ada studi yang menerangkan beberapa efek biologi yang merugikan. Jaringan lunak yang beresiko tinggi terhadap pelepasan komponen ini adalah gingiva (Craig dan Powers, 2002).

Kawaguchi dkk (1996) mengatakan bahwa terdapat hubungan timbal balik antara derajat kuring dengan *elution* untuk komposit aktivasi sinar. Derajat kuring mempengaruhi sifat mekanis dari resin. Oleh karena itu meningkatnya komponen

yang terlepas akan menurunkan sifat mekanis bahan. Bahan yang diaktivasi sinar melepaskan beberapa komponen toksisitas yang dapat menghasilkan respon sel yang berbeda. Toksisitas diharapkan berhubungan dengan derajat polimerisasi dan derajat pelepasan komponen. Peningkatan monomer yang terlepas dari bahan yang diaktivasi sinar akan meningkatkan potensi sitotoksitas terhadap jaringan lunak rongga mulut.

Menurut Wataha (1999) bahwa bahan dental yang berbasis resin akan terus melepaskan komponennya, yang cukup menyebabkan pengaruh yang mematikan atau terjadi perubahan seluler secara *in vitro* setelah perendaman selama 2 minggu dalam saliva buatan. Pada HPLC tampak bahwa pelepasan awal substansi lebih tinggi tanpa perendaman, menurun setelah 7 atau 14 hari perendaman. Sitotoksitas bahan lebih dari 50% kontrol negatif teflon, tanpa direndam dalam saliva buatan.

Komposit pada awalnya bersifat sangat sitotoksis bila kontak langsung dengan fibroblas pada tes *in vitro*. Resin yang dikuring dengan sinar dan secara kimia menyebabkan sitotoksitas sedang pada kultur sel sekitar 24 sampai 72 jam paparan, namun beberapa sistem yang lebih baru mempunyai toksisitas minimal. Terbukti bahwa resin yang dikuring dengan sinar adalah kurang sitotoksis daripada sistem kimia, tetapi pengaruh yang lebih tinggi tergantung efisiensi kuring dari sinar dan tipe sistem resin (Craig dan Powers, 2002).

Dari penjabaran di atas akhirnya timbul pemikiran apakah bahan resin komposit sinar tampak yang dikuring dengan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) dan direndam dalam saliva buatan dengan pH berbeda (pH 7 dan 5,5) akan berpengaruh terhadap jumlah monomer sisa dan sitotoksitasnya.

3.2 Hipotesis

Perubahan lama penyinaran dan pH saliva buatan sebagai media perendam resin komposit sinar tampak akan mempengaruhi jumlah monomer sisa dan sitotoksitasnya.

Adapun hipotesis kerja penelitian ini adalah :

1. Lama penyinaran 20, 40, 60 detik pada resin komposit sinar tampak akan menurunkan kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.
2. Perendaman resin komposit sinar tampak pada saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 akan menurunkan kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.

BAB 4

METODE PENELITIAN

TESIS

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Eksperimental laboratoris.

4.2 Rancangan Penelitian

The Post test - Only Control Design.

4.3 Unit Eksperimental

Resin komposit sinar tampak.

4.4 Besar Sampel

Untuk mengetahui besar sampel yang dipergunakan untuk pengukuran monomer sisa ditentukan melalui estimasi besar sampel menurut rumus Higgin (1985) :

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S_c^2}{\delta^2}$$

Nilai S_c^2 dan δ^2 sama, sedangkan $Z_{\alpha} = 1,65$ ($\alpha = 0,05$, satu arah) dan $Z_{\beta} = 0,84$ ($\beta = 0,20$). Dengan demikian besar sampel adalah $n = 6,2$, maka besar sampel minimal tiap kelompok adalah 7.

Besar sampel yang dipergunakan untuk uji sitotoksisitas ditentukan melalui estimasi besar sampel menurut

$$n = \frac{(Z_{1/2\alpha})^2 \delta^2}{d^2}$$

Nilai $Z_{1/2\alpha} = 1,96$ untuk $\alpha = 0,05$ dan δ adalah SD terbesar dari penelitian pendahuluan, d sama dengan $\frac{1}{2}$ atau $\frac{1}{4}$ SD. Dengan demikian besar sampel

adalah $n = 15,366$, maka besar sampel minimal untuk tiap kelompok adalah 16.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Klasifikasi Variabel

- Variabel bebas
 - Lama penyinaran resin komposit sinar tampak.
 - pH saliva buatan (7 dan 5,5).
- Variabel tergantung
 - Monomer sisa.
 - Sitotoksisitas.
- Variabel kendali
 - Manipulasi resin komposit.
 - Sterilisasi alat dan bahan uji.
 - Media perendaman.
 - Suhu, lama perendaman dalam saliva, macam pH saliva buatan.
 - Cara pengukuran monomer sisa.
 - Jenis kultur sel.
 - Cara penghitungan densitas optik formasan.
 - Lama waktu kontak sel dengan ekstrak resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan.

4.5.2 Definisi Operasional Variabel

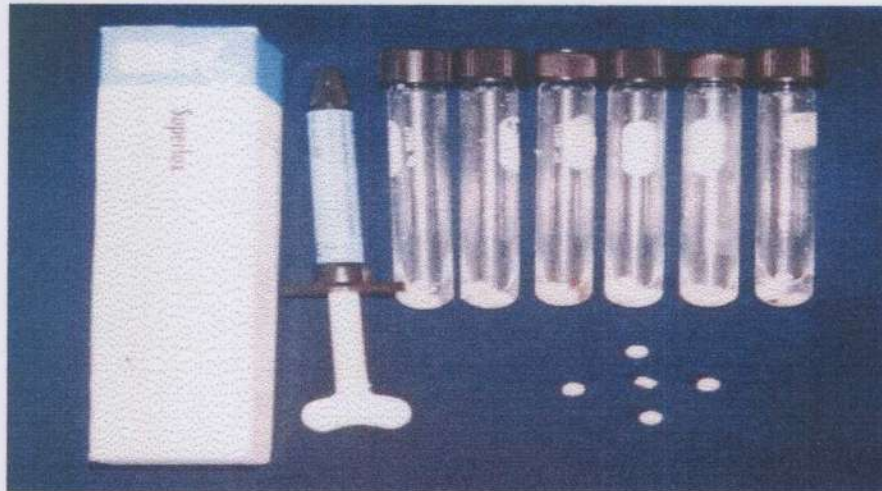
- Lama penyinaran adalah waktu yang dibutuhkan untuk proses polimerisasi resin komposit sinar tampak.

- pH saliva buatan adalah variasi derajat keasaman larutan (saliva buatan yang digunakan untuk perendaman resin komposit).
- Lama perendaman adalah waktu yang dibutuhkan untuk pelepasan monomer sisa di dalam saliva buatan.
- Monomer sisa adalah monomer yang tidak ikut terpolimerisasi yang dianalisa dengan kromatografi gas.
- Sitotoksitas adalah toksisitas kultur sel yang telah terpapar oleh resin komposit sinar tampak yang direndam dalam saliva buatan dengan mengukur densitas optiknya menggunakan spektrofotometer.

4.6 Bahan Penelitian

4.6.1 Bahan Penelitian yang Digunakan untuk Pemeriksaan Monomer Sisa

- a. Bahan uji : resin komposit sinar tampak (Superlux[®], Germany).
- b. Media perendaman saliva buatan :
 - Na Cl 36,0 gr
 - K Cl 1,69 gr
 - Ca Cl₂ 0,956 gr
 - Na HCO₃ 0,850 gr
 - Destiled 400 ccdengan pH 7 (formula Hudget et al, 1980).
- c. Metil Etil Keton (Merck).
- d. Metil Metakrilat (Merck).

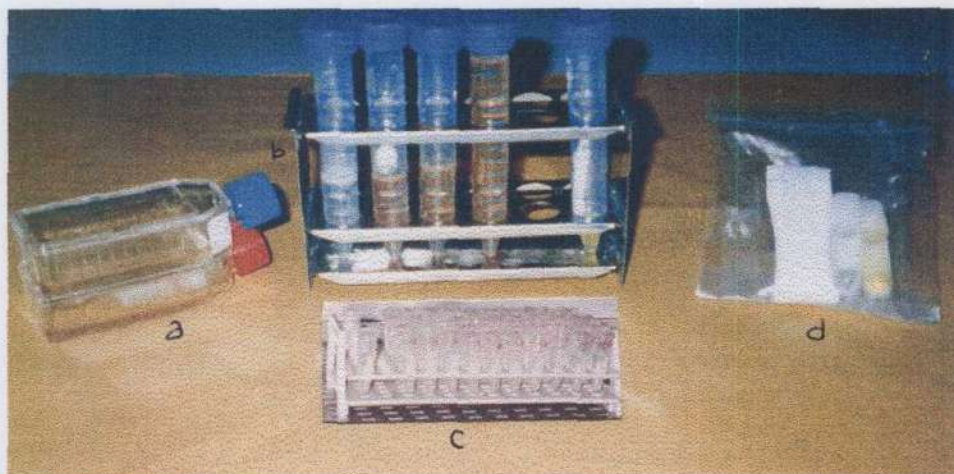


Gambar 4.1 Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan monomer sisa.
a. Unit eksperimental
b. Sampel
c. Sampel direndam dalam saliva buatan dan metil etil keton

4.6.2 Bahan yang Digunakan untuk Pemeriksaan Sitotoksisitas

- a. Resin komposit sinar tampak (Superlux[®], Germany).
- b. Media perendaman saliva buatan.
- c. Kultur sel : *Cell line* BHK-21.
- d. Antibiotika : Penisilin streptomisin (Gibco).
- e. Antifungi : *Fungizone* (Gibco).
- f. Media RPMI-1640 (Gibco).
- g. Pencuci serum : *Phosphate Buffer Saline* (PBS).
- h. Serum *Bovine* (FBS, Gibco).
- i. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (Sigma, M2128).

- j. SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*).
- k. Air : *doubled destiled water* (sigma).
- l. Tripan biru.



Gambar 4.2 Bahan yang digunakan untuk uji sitotoksisitas.

- a. Kultur sel BHK-21
- b. *Conicle tube* berisi : larutan SDS, RPMI-1640, media pencuci, media kultur, larutan MTT.
- c. Sampel direndam dalam saliva buatan.
- d. MTT.

4.7 Alat Penelitian

4.7.1 Alat yang Digunakan untuk Pemeriksaan Monomer Sisa

- a. Cetakan sampel berbentuk cincin dengan ukuran diameter dalam 5 mm dan tinggi 2 mm.
- b. Plat kuningan untuk fiksasi cetakan sampel.
- c. Kromatografi gas tipe 5890 seri II (Hewlet Packard).
- d. *Syringe* 1 μ l.
- e. *Stop watch* (Casio, Japan).

- f. Timbangan *Micro Balance* (Shimadzu, Japan).
- g. Plat kaca.
- h. Matriks strip.
- i. Anak timbangan.
- j. *Plastic Filling Instrument*.
- k. *Burnisher*.
- l. Pinset.
- m. Syringe 2,5 ml.
- n. Tabung reaksi.
- o. *Filter* 0,2 μm (Minisart, USA)
- p. *Semen stopper*.



Gambar 4.3 Kromatografi gas tipe 5890 seri II (Hewlet Packard).

4.7.2 Alat yang Digunakan untuk Pemeriksaan Sitotoksitas

- a. *Microplate 96 well* (Costar, USA).
- b. Pipet mikro (Pipetman, Gilson, France).
- c. Pipet *acu* (pipetboy, Integra Biosciences, France).
- d. Pipet *pasteur* (Brand, Germany).
- e. *Filter* 0,2 μm (Minisart, USA).

- f. *Eppendorf* (Brand, Germany).
- g. *Flask* (Nunclon, Denmark).
- h. *Conical* (Falcon, USA).
- i. *Laminar flow* (BioHazard, Protection Gelman Sciences, Germany).
- j. Inkubator CO₂ (Jouan, IG150, England).
- k. *Syringe* 10 ml dan 1 ml.
- l. Spektrofotometer (Titertek[®], Multiskan[®], MCC/340, Germany).
- m. Timbangan *micro balance* (Shimadzu, Japan).
- n. *Centrifuge* (MSE, USA).
- o. *Shaker* (Dynatech).
- p. *Counter* untuk menghitung sel.
- q. Hemositometer.



Gambar 4.4 Alat yang digunakan untuk uji sitotoksisitas.

- a. Pipet accu
- b. Mikropipet
- c. Tip
- d. *Scraper*
- e. Pipet pasteur
- f. *Eppendorf*
- g. *Conicle tube*
- h. Syringe 10 ml
- i. Syringe 1 ml
- j. Filter 0,2 µm
- k. *Microplate* 96 well



Gambar 4.5 Spektrofotometer (Fitertek[®], Multiskan[®], MCC/340, Germany)

4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

a. Tempat Penelitian

- Laboratorium Dasar Kimia Organik MIPA Universitas Airlangga.
- Laboratorium Kimia Organik MIPA Universitas Gajah Mada.
- Laboratorium Imunokimia Pusat Antar Universitas-Bioteknologi (PAU-Biotek), UGM Jogjakarta.

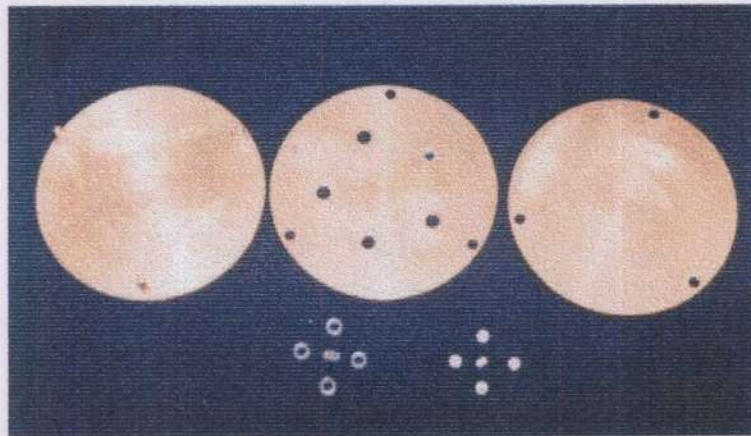
b. Waktu Penelitian

Juni – Oktober 2002.

4.9 Cara Kerja

4.9.1 Persiapan Sampel

Cetakan sampel difiksasi dengan plat kuningan, kemudian resin komposit yang belum mengeras dimasukkan ke dalamnya sampai penuh dengan *plastic filling instrument*. Bagian atas cetakan diberi matriks strips, ditekan dengan plat kuningan yang diberi beban seberat 500 gr selama 30 detik. Kemudian beban dan plat diambil, dilanjutkan penyinaran dengan alat kuring sinar tampak, dengan ujung kuring (*curing tip*) menempel pada matriks strip. Penyinaran dengan alat kuring sinar tampak lamanya 20, 40, 60 detik. Setelah sampel mengeras segera dilepas dari cetakan, sehingga diperoleh sampel berbentuk silindris. Sampel harus memenuhi kriteria tidak porous dan permukaan sampel rata.



Gambar 4.6 Bentuk dan ukuran cetakan sampel dan sampelnya.

4.9.2 Persiapan Saliva Buatan

Saliva buatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah saliva buatan yang dibuat Hudget et al (1980) dengan komposisi sebagai berikut :

- Na Cl = 36,0 gr
- K Cl = 1,69 gr
- Ca Cl₂ = 0,96 gr
- Na HCO₃ = 0,80 gr

Bahan tersebut di atas dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer ditambah 400 cc air destilata. Lalu kocok semua bahan hingga larut. Campuran ini menghasilkan pH netral (pH 7).

Agar diperoleh pH larutan 5,5 tuangkan 100 cc dari campuran di atas ke dalam gelas beker kemudian teteskan sedikit demi sedikit HCl 0,1 Molar ke dalam gelas beker dengan menggunakan pipet hingga pH mencapai 5,5, ukur harga pH dengan pH meter.

4.9.3 Perendaman Resin Komposit Sinar Tampak dalam Saliva Buatan

Sampel berbentuk silindris sebanyak 3 buah (200 mg) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi saliva buatan sebanyak 1 ml. Perendaman sampel selama 1 hari (24 jam). Untuk uji pengukuran jumlah monomer sisa dan sitotoksisitas, sampel dikelompokkan sebagai berikut :

Kelompok I : sampel disinari selama 20 detik, direndam saliva buatan pH 7.

Kelompok II : sampel disinari selama 40 detik, direndam saliva buatan pH 7.

Kelompok III : sampel disinari selama 60 detik, direndam saliva buatan pH 7.

Kelompok IV : sampel disinari selama 20 detik, direndam saliva buatan pH 5,5.

Kelompok V : sampel disinari selama 40 detik, direndam saliva buatan pH 5,5.

Kelompok VI : sampel disinari selama 60 detik, direndam saliva buatan pH 5,5.

4.9.4 Penentuan Jumlah Monomer Sisa Resin Komposit Sinar Tampak

Sebelum menentukan jumlah monomer sisa dalam resin komposit setelah direndam dalam saliva buatan selama 1 jam dilakukan pembuatan standar eksternal dari resin komposit yang belum berpolimerisasi dengan cara : melarutkan 10 mg monomer resin komposit dalam 10 ml larutan metil etil keton sehingga diperoleh larutan sebanyak 0,1% B/V.

Kemudian larutan ini disaring dengan filter milipore diambil sebanyak 1 μ l disuntikkan pada gerbang suntik kromatografi gas 5890 seri II dengan menggunakan kolom HP 5 (crosslinked methyl silicone gum) dengan komposisi 5% diphenyl dan 95% dimetil polisiloksan, flow gas helium 30 He, temperatur awal 50°C, temperatur akhir 250°C, temperatur awal 50°C dengan kenaikan suhu 3,0 derajat/menit. Diperoleh waktu retensi untuk monomer ini selama \pm 5,267 menit. Dari data kromatogram dapat dibuktikan apakah ada korelasi linier area dan konsentrasi.

Penentuan jumlah monomer sisa dari resin komposit yang telah mengeras sebagai berikut : sampel dilarutkan dalam metil etil keton sebanyak 1 ml dibiarkan pada suhu 4°C selama 96 jam (Sadamori dkk, 1992). Larutan ini diambil sebanyak 1 μ l dan disuntikkan pada gerbang suntik kromatografi gas. Panjang gelombang dideteksi dengan detektor ionisasi nyala (FID) sehingga didapat rata-rata luas daerah (min area) dari monomer. Konsentrasi sampel adalah 20% B/V.

Menentukan persentase jumlah monomer sisa dari resin komposit yang telah mengeras dengan cara : menyamakan konsentrasi standart dengan

konsentrasi sampel yaitu mengalikan area standart dengan 200, sehingga diperoleh persentase monomer sisa sebagai berikut :

luas area yang diperoleh dibagi dengan luas area monomer resin komposit yang belum mengalami polimerisasi dikalikan 100%.

Menentukan monomer sisa resin komposit sinar tampak setelah perendaman dalam saliva buatan dengan cara merendam sampel dalam saliva buatan pH 5.5 dan pH 7 selama 1 hari. Kemudian sampel diambil dari saliva buatan, dimasukkan dalam larutan metil etil keton 1 ml selama 96 jam pada suhu 4°C (kelompok I – VI). Larutan diambil 1 µl dimasukkan ke gerbang suntik kromatograf. Perhitungan monomer sisa sama dengan di atas.

4.9.5 Penentuan Sitotoksisitas Resin Komposit Sinar Tampak Terhadap Sel BHK-21

1. Persiapan sampel

Sampel dipersiapkan seperti pada kelompok I sampai VI, direndam selama 24 jam. Setelah 24 jam larutan perendam sampel difilter dengan milipore 0,2 µm.

Hasil filter ini merupakan filtrasi dari resin dalam saliva buatan pH 7 dan 5,5.

2. Persiapan kultur sel

- a. Sel (dalam fial) dari N₂ cair dibiarkan pada suhu kamar. Jika sudah cair dimasukkan dalam *conicle* 15 ml yang telah diisi media pencuci (RPMI-1640 mengandung penstrep 1%).
- b. Diputar dengan kecepatan 1200 rpm selama 2 menit.
- c. Supernatan dibuang, ditambah lagi media pencuci.

- d. Diputar kembali 1200 rpm selama 2 menit.
- e. Supernatan dibuang, kemudian ditambah media kultur (penumbuh yang terdiri dari RPMI 1640, FBS 20%, penstrep 1%), resuspensi dan dimasukkan ke dalam *flask*.
- f. Inkubasi 37°C, O₂ 95%, CO₂ 5% selama 24 jam.
- g. Bila sel tumbuh banyak maka sel dapat dibiarkan ke dalam *flask* baru untuk diperbanyak.
- h. Ambil media kultur (RPMI-1640, penstrep 1%, FBS 10%) dengan pipet pasteur, masukkan ke dalam *flask* dengan cara menyemprotkan sehingga sel lepas. Untuk membantu melepas sel dari dinding *flask*, dilakukan *scrapping*.
- i. Jika sel sudah lepas dari dinding *flask*, ambil semua suspensi tersebut dengan pipet pasteur.
- j. Masukkan ke *conicle tube* 15 ml, kemudian diputar 1200 rpm selama 5 menit.
- k. Buang supernatan, tambahkan media pencuci.
- l. Diputar 1200 rpm selama 3 menit (ulang 2x).
- m. Tambahkan media kultur (RPMI-1640, penstrep 1%, FBS 10%), resuspensi.
- n. Sel siap digunakan untuk keperluan uji sitotoksisitas atau bisa dibiakkan kembali ke *flask* baru.
- o. Untuk uji sitotoksisitas, ambil 10 µl resuspensi sel ditambah tripan biru, kemudian dihitung dengan hemositometer.
- p. **Kepadatan sel untuk uji sitotoksisitas adalah 2×10^5 sel/100 µl/well.**

3. Persiapan uji sitotoksisitas

- a. Dipersiapkan *microplate* (96 *well*/sumuran).

Sel dengan kepadatan 2×10^5 dalam 100 μl media kultur (RPMI-1640, penstrep 1%, FBS 10%, fungizone 100 unit/ml), dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran.

Tambahkan ekstrak resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan sebanyak 50 μl ke dalam tiap sumuran.

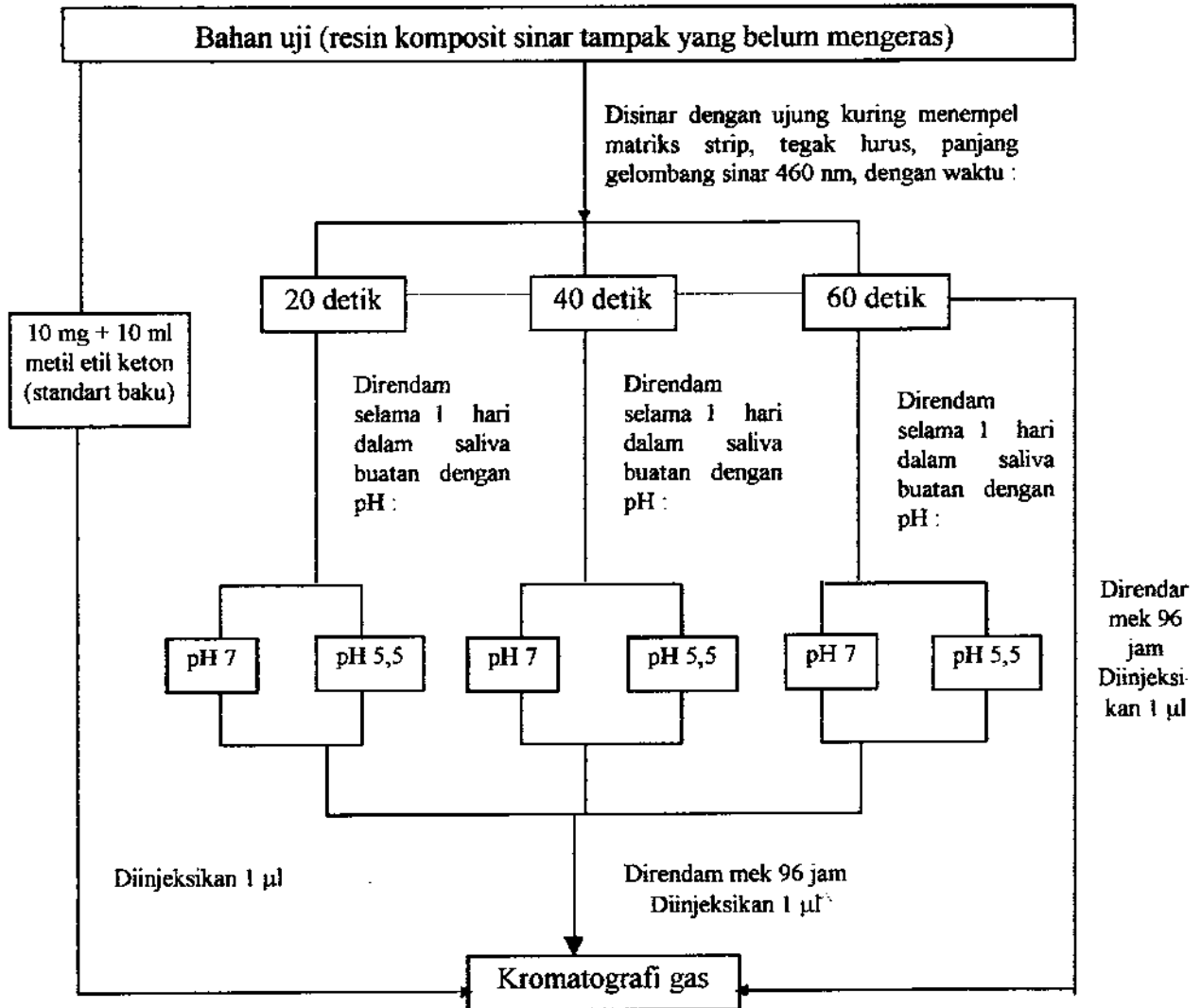
- b. Sebagai kontrol adalah tiap sumuran berisi sel + media kultur, saliva buatan pH 7 dalam sel + media kultur, saliva buatan pH 5,5 dalam sel + media kultur.

Masing-masing digunakan 16 sumuran (ulangan).

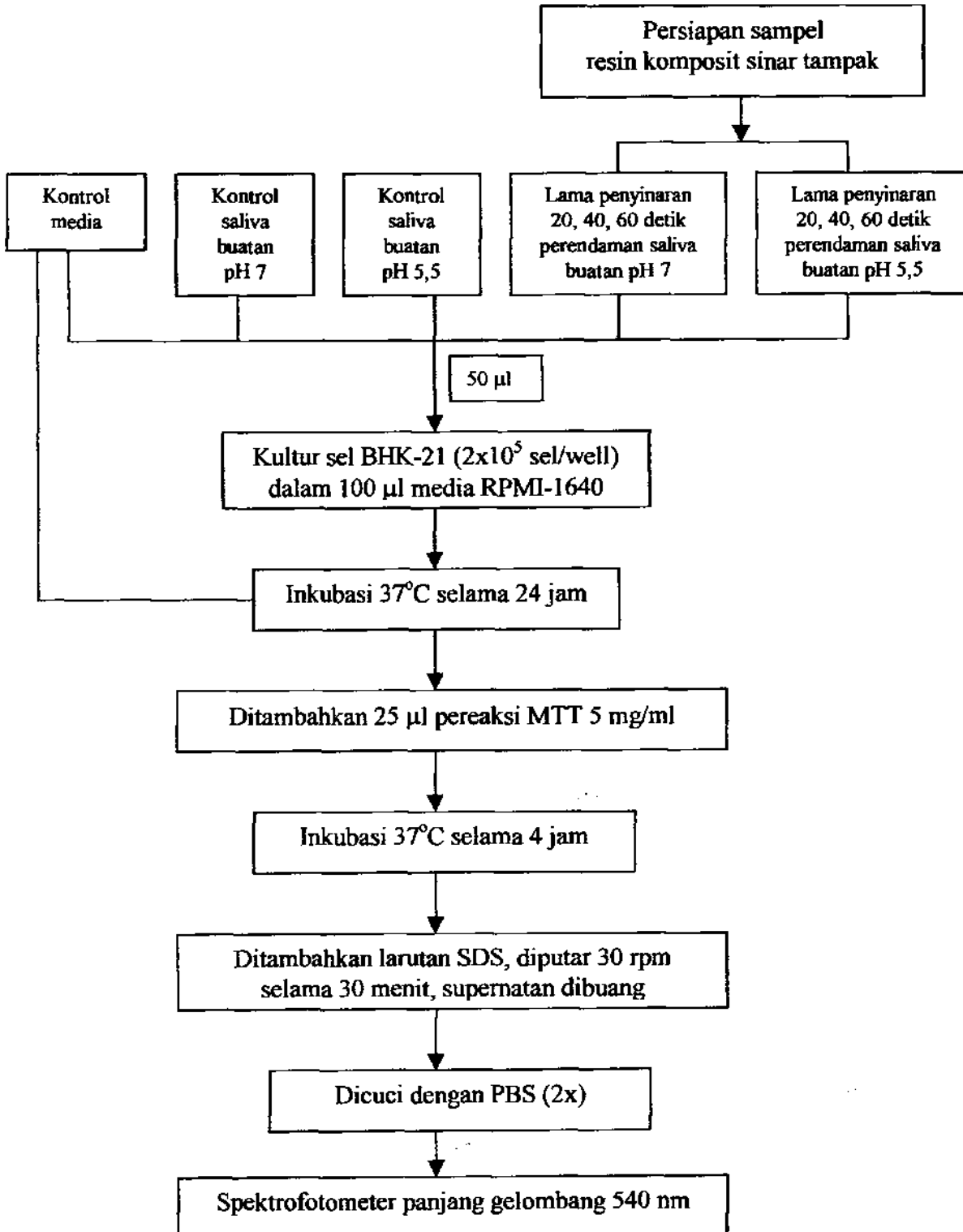
- c. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C .
- d. Ditambahkan 25 μl pereaksi MTT 5 mg/ml dalam PBS untuk setiap sumuran selama empat jam, inkubasi kembali dalam inkubator 37°C (Telli dkk, 1999).
- e. Kedalam suspensi sel ditambahkan larutan SDS (*sodium dodecyl sulphate*) sebanyak 80 μl tiap sumuran.
- f. Diputar 30 rpm selama 30 menit.
- g. Supernatan dibuang, kemudian ditambahkan PBS (diulang 2x).
- h. Menghitung nilai densitas optik dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

4.10 Alur Penelitian

4.10.1 Penentuan Monomer Sisa Resin Komposit Sinar Tampak



4.10.2 Penentuan Sitotoksitas Resin Komposit Sinar Tampak Terhadap Kultur Sel BHK-21



4.11 Analisa Data

Untuk menentukan sifat toksisitas monomer sisa yang terlepas dari resin komposit sinar tampak yang direndam dalam saliva buatan terhadap kultur sel BHK-21 dilakukan dengan analisis Anava satu arah dilanjutkan LSD, Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Man Whitney.

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

TESIS

BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

Data penelitian tentang pengaruh lama penyinaran resin komposit sinar tampak dan perendaman dalam saliva buatan dengan berbagai derajat keasaman (pH 7 dan 5,5) terhadap jumlah monomer sisa dan sitotoksitasnya adalah sebagai berikut.

5.1.1 Hasil Perhitungan Jumlah Monomer Sisa

Jumlah monomer sisa dihitung dari hasil perbandingan area metil metakrilat dari sampel resin komposit sinar tampak seberat 200 mg yang dikuring dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik, direndam saliva buatan pH 7 dan 5,5 sebanyak 1 ml selama 1 hari, kemudian direndam metil etil keton 1 ml selama 4 hari dengan area metil metakrilat standart pasta resin komposit sinar tampak dikalikan 100% pada kromatogram. Sebagai kontrol adalah resin komposit sinar tampak yang dikuring dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik tanpa direndam saliva buatan, tetapi langsung direndam metil etil keton selama 4 hari. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.1

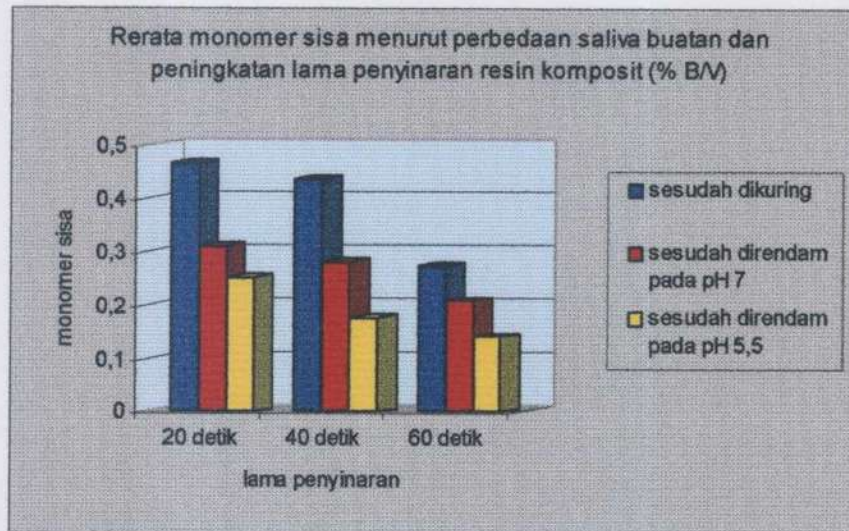
Tabel 5.1 Rerata dan simpangan baku jumlah monomer sisa (metil metakrilat) resin komposit sinar tampak setelah dikuring dan direndam dalam saliva buatan (% B/V)

Lama penyinaran	N	Sesudah dikuring (Kontrol)		Sesudah direndam pada pH 7		Sesudah direndam pada pH 5,5	
		x	SD	x	SD	x	SD
20 detik	8	0,46463	7,7632E-03	0,43525	1,0181E-02	0,27138	2,3261E-03
40 detik	8	0,30937	5,8539E-03	0,28075	3,3700E-03	0,20787	2,0310E-03
60 detik	8	0,25113	1,8851E-03	0,17513	6,0813E-03	0,14025	2,9641E-03

Keterangan : N = Ulangan/replikasi masing-masing perlakuan
 x = Rerata prosentase monomer sisa
 SD = Simpangan baku

Dari tabel 5.1 tampak bahwa masing-masing lama penyinaran resin komposit sinar tampak dan pH yang digunakan untuk merendam, terjadi penurunan jumlah monomer sisa bila dibandingkan dengan kontrol. Jumlah monomer sisa yang terkecil pada lama penyinaran 60 detik dengan saliva buatan pH 5,5, sedangkan jumlah monomer sisa terbesar pada lama penyinaran 20 detik dengan saliva buatan pH 7.

Untuk memperjelas posisi jumlah monomer sisa masing-masing kelompok yang dipengaruhi oleh lama penyinaran dan pH saliva buatan sebagai larutan perendam dapat dilihat pada diagram batang. Diagram batang tersaji pada gambar 5.1 yang menunjukkan rerata jumlah monomer sisa resin komposit sinar tampak menurut perbedaan pH saliva buatan dan peningkatan lama penyinaran.



Gambar 5.1 Rerata jumlah monomer sisa menurut perbedaan pH saliva buatan dan peningkatan lama penyinaran resin komposit.

5.1.2 Hasil Uji Sitotoksisitas Resin Komposit Sinar Tampak

Pada penelitian ini, sitotoksisitas resin komposit sinar tampak ditentukan dengan menggunakan esei MTT yang mengukur densitas optik formasan. Nilai densitas optik formasan semakin tinggi berarti sitotoksisitas semakin rendah, sel yang hidup semakin banyak, sedangkan nilai densitas optik formasan semakin rendah berarti sitotoksisitas semakin tinggi, sel yang hidup semakin sedikit.

Densitas optik formasan dihitung dari resin komposit sinar tampak yang telah dikuring dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik dan direndam dalam saliva buatan pH 7 dan 5,5 selama 1 hari. Sebagai kontrol digunakan sel + media, saliva buatan pH 7, dan saliva buatan pH 5,5. Larutan ekstrak dari resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan diambil 100 μ l dipaparkan ke dalam kultur sel

selama 24 jam kemudian diukur dengan spektrofotometer. Hasil densitas optik formasan dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rerata dan simpangan baku densitas optik formasan kultur sel setelah terpapar monomer sisa resin komposit sinar tampak yang direndam dalam saliva buatan menurut pH dan lama penyinaran.

Lama penyinaran	Sesudah perendaman saliva buatan			
	pH 7		pH 5,5	
	x	SD	x	SD
Kontrol sel + media	0,32819	1,1594E-02	0,32819	1,1594E-02
Kontrol pH saliva buatan	0,12019	7,7822E-03	0,10244	5,0195E-03
20 detik + saliva buatan	0,089188	2,4005E-03	0,084750	2,3523E-03
40 detik + saliva buatan	0,097500	1,7889E-03	0,088937	3,7854E-03
60 detik + saliva buatan	0,10650	1,1057E-02	0,096625	1,9279E-03

Keterangan : x = Rerata densitas optik formasan kultur sel
SD = Simpangan baku

Dari tabel 5.2 tampak bahwa nilai densitas optik formasan tertinggi pada kelompok lama penyinaran 60 detik dan saliva buatan pH 7, sedang nilai terendah pada kelompok lama penyinaran 20 detik dan saliva buatan pH 5,5.

Pada penelitian ini juga diukur densitas optik formasan kultur sel tanpa sampel sebagai kelompok kontrol yaitu kontrol sel + media, saliva buatan pH 7, saliva buatan pH 5,5. Rerata kelompok sel + media mempunyai nilai densitas optik formasan 0,328, kelompok kontrol saliva buatan pH 7 adalah 0,120, kelompok saliva buatan pH 5,5 adalah 0,102. Perhitungan sitotoksisitas diekspresikan dengan memberi nilai densitas optik formasan pada kelompok sel + media adalah 100% (dianggap mempunyai sitotoksisitas nol). Prosentase nilai rerata densitas optik formasan untuk masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Persentase rerata densitas optik formasan dan sitotoksisitas resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan menurut pH dan lama penyinaran (%).

Lama penyinaran	Sesudah perendaman saliva buatan			
	pH 7		pH 5,5	
	Densitas optik	Sitotoksisitas	Densitas optik	Sitotoksisitas
Kontrol sel + media	100	0	100	0
Kontrol pH saliva buatan	49,3	50,7	44,96	54,04
20 detik + saliva buatan	41,75	58,25	40,7	59,3
40 detik + saliva buatan	43,8	56,2	41,7	58,3
60 detik + saliva buatan	45,9	54,1	43,7	56,3

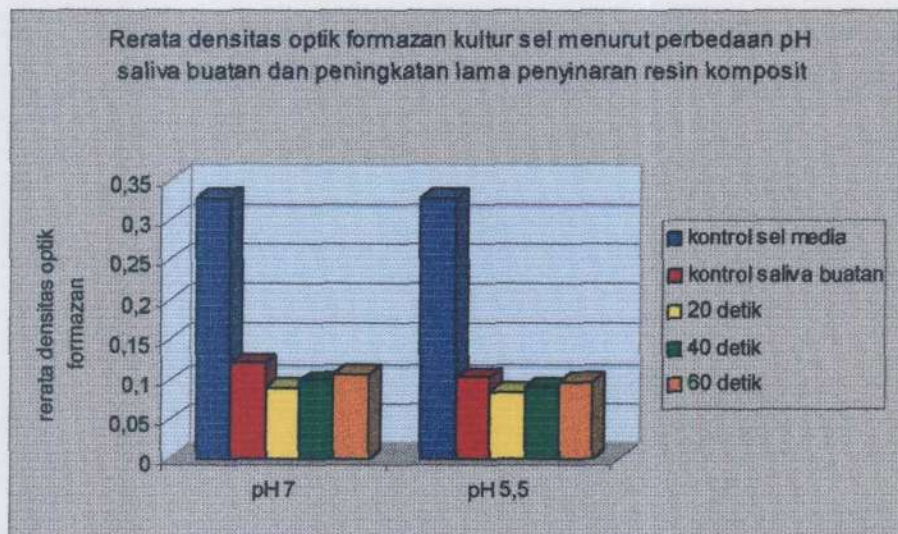
Dari tabel 5.3 tampak bahwa kontrol saliva buatan pH 7 mempunyai nilai densitas optik formasan 0,120 diekspresikan dengan 49,3% (artinya sitotoksisitas 50,7%), sedang saliva buatan pH 5,5 diekspresikan 44,96% (sitotoksisitasnya 55,04%). Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan sitotoksisitas saliva buatan pH 7 sebesar 50,7% dibanding kontrol sel media dan 55,04% pada saliva buatan pH 5,5 dibanding kontrol sel media.

Pada kelompok perlakuan paparan resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 20 detik dalam saliva buatan pH 7 mempunyai densitas optik 41,75% artinya perbedaan sitotoksisitas sebesar 58,25% dibandingkan kontrol sel media dan 7,45% dibanding kontrol saliva buatan pH 7.

Dengan penambahan lama penyinaran 60 detik berbeda 54,1% dibandingkan kontrol sel media dan 3,4% dibandingkan kontrol pH 7. Sedangkan pada penurunan pH saliva buatan dengan lama penyinaran 20 detik mempunyai densitas optik sebesar 40,7% yang menunjukkan perbedaan sitotoksisitas sebesar 59,7% dibandingkan kontrol sel media dan 3,56 dibanding kontrol pH 5,5. Jadi pada kelompok perlakuan dengan lama penyinaran 20 detik dalam saliva buatan

pH 5,5 menunjukkan sitotoksitas paling tinggi dan lama penyinaran 60 detik dalam saliva buatan pH 7 sitotoksitas terendah.

Untuk memperjelas posisi nilai densitas optik formasan masing-masing kelompok yang dipengaruhi lama penyinaran dan pH saliva buatan dapat dilihat pada diagram batang. Diagram batang disajikan pada gambar 5.2 yang menunjukkan rerata densitas optik formasan menurut perbedaan pH saliva buatan dan peningkatan lama penyinaran resin komposit sinar tampak.



Gambar 5.2 Rerata densitas optik formazan kultur sel menurut perbedaan pH saliva buatan dan peningkatan lama penyinaran resin komposit.

Untuk mengetahui densitas optik (sitotoksisitas) resin komposit sinar tampak adalah dengan cara menghitung selisih antara densitas optik (sitotoksisitas) resin komposit sinar tampak setelah direndam saliva buatan dengan densitas optik (sitotoksisitas) kontrol pH saliva buatan. Hal ini dapat dilihat pada tabel 5.4.

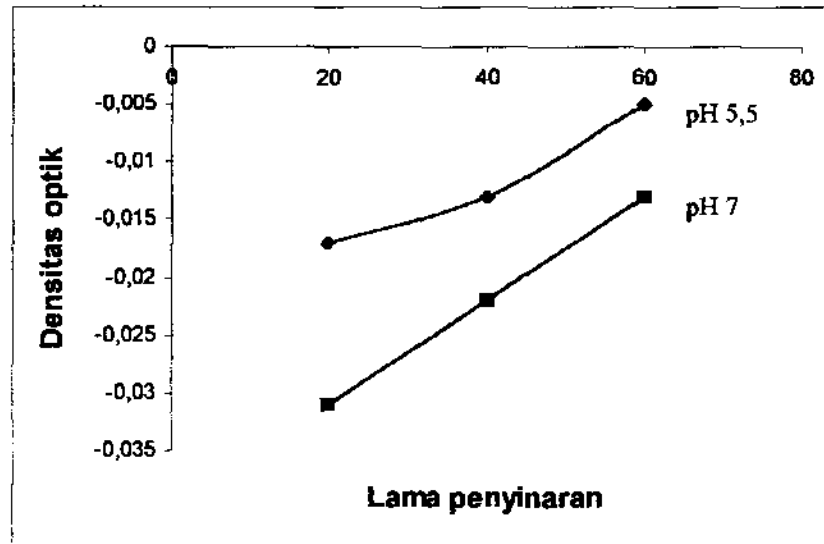
Tabel 5.4 Rerata densitas optik dan sitotoksisitas resin komposit sinar tampak.

Lama penyinaran	pH saliva buatan			
	7		5,5	
	Densitas optik	Sitotoksisitas (%)	Densitas optik	Sitotoksisitas (%)
Kontrol	0	50,7	0	54,04
20 detik	- 0,031	7,55	- 0,017	5,26
40 detik	- 0,022	5,5	- 0,013	4,26
60 detik	- 0,013	3,4	- 0,005	2,16

Dari tabel 5.4 diketahui bahwa rerata densitas optik tertinggi dari resin komposit sinar tampak dibandingkan dengan kontrol pH saliva buatan adalah pada lama penyinaran 60 detik (sitotoksisitas terendah).

Densitas optik terendah (sitotoksisitas tertinggi) pada lama penyinaran 20 detik yaitu 0,031 (negatif) untuk saliva buatan pH 7 dan 0,017 (negatif) untuk saliva buatan pH 5,5.

Untuk mengetahui posisi densitas optik resin komposit sinar tampak sehubungan dengan pH saliva buatan dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Rerata densitas optik resin komposit sinar tampak pada pH 7 dan pH 5,5.

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

5.2.1 Analisis Hasil Uji Jumlah Monomer Sisa Resin Komposit Sinar Tampak

Sebelum dilakukan uji parametrik untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antara variabel lama penyinaran dan pH perlu dilakukan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* (lampiran). Hasil uji tersebut tersaji pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk jumlah monomer sisa.

Lama penyinaran	Sesudah dikuring (kontrol)	pH 7	pH 5,5
20 detik	0,788	0,439	0,822
40 detik	0,970	0,999	0,979
60 detik	0,814	0,954	0,983

Keterangan : Data berdistribusi normal apabila $p > 0,05$ memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik.

Dari tabel 5.5 dapat dilihat bahwa semua harga $p > 0,05$. Hal ini berarti bahwa semua data berdistribusi normal, dengan demikian salah satu asumsi pengujian parametrik terpenuhi.

5.2.1.1 Pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) resin komposit sinar tampak tanpa perendaman saliva buatan terhadap monomer sisa

Data mengenai pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) tanpa perendaman dalam saliva buatan terhadap jumlah monomer sisa dianalisis menggunakan uji ANAVA satu arah. Sebelum diadakan pengujian ANAVA diuji homogenitasnya dengan menggunakan uji Levene. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai 2,439 dengan tingkat signifikansi 0,281 ($p > 0,05$). Hal ini berarti data berasal dari sumber keragaman yang sama (homogen). Hasil uji ANAVA dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil uji Anava satu arah pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) terhadap jumlah monomer sisa.

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	2	0,195	9,744E-02	2980,055	0,000
Dalam perlakuan	21	6,866E-04	3,270E-05		
Total	23	0,196			

Keterangan : db = derajat bebas
 F = F hitung
 P = probabilitas

Dari tabel 5.6 diperoleh harga $p < 0,005$, hal ini menunjukkan bahwa : ada perbedaan antar perlakuan (lama penyinaran 20, 40, 60 detik) yaitu $p = 0,000$.

Untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*) atau uji Beda Nyata Terkecil. Hasil uji lanjut selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.7 Hasil uji LSD pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) terhadap jumlah monomer sisa.

Perlakuan	Beda rerata	P
Sesudah kuring 20'' – sesudah kuring 40''	0,15525	0,000
Sesudah kuring 20'' – sesudah kuring 60''	0,21350	0,000
Sesudah kuring 40'' – sesudah kuring 60''	0,058250	0,000

Pengujian LSD pada tabel 5.7 menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antar seluruh pasangan perlakuan ($p < 0,05$) dan pasangan perlakuan yang paling berbeda adalah antara lama penyinaran 20 detik dengan 60 detik.

5.2.1.2 Analisis pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) pada perendaman saliva buatan pH 7 terhadap jumlah monomer sisa

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pada saliva buatan pH 7 dilakukan uji ANAVA satu arah. Sebelumnya dilakukan uji homogenitas data menggunakan uji Levene, diperoleh nilai 1,286 dengan tingkat signifikan 0,297 ($p > 0,05$). Hal ini berarti data berasal dari sumber keragaman yang sama (homogen). Hasil uji ANAVA selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Hasil uji Anava satu arah pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) dan perendaman dalam saliva buatan pH 7 terhadap jumlah monomer sisa.

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	2	0,274	0,137	2702,736	0,000
Dalam perlakuan	21	1,064E-03	5,066E-05		
Total	23	0,275			

Dari tabel 5.8 tampak bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan (lama penyinaran 20, 40, 60 detik) pada saliva buatan pH 7 ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang perbedaannya bermakna dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil selengkapnya uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Hasil uji LSD pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) dan perendaman dalam saliva buatan pH 7 terhadap jumlah monomer sisa.

Perlakuan	Beda rerata	P
Sesudah direndam saliva buatan pH 7 dengan lama penyinaran :		
20 detik – 40 detik	0,15450	0,000
20 detik – 60 detik	0,26013	0,000
40 detik – 60 detik	0,10563	0,000

Dari tabel 5.9 dapat diketahui bahwa :

- a. Seluruh pasangan perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).
- b. Perbedaan bermakna berarti peningkatan lama penyinaran akan mempengaruhi jumlah monomer sisa.
- c. Pasangan perlakuan yang paling berbeda adalah antara lama penyinaran 20 detik dengan 60 detik.

5.2.1.3 Analisis pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) pada perendaman saliva buatan pH 5,5 terhadap jumlah monomer sisa

Uji homogenitas data dengan uji Levene diperoleh nilai 1,250 dengan tingkat signifikansi 0,307 ($p > 0,05$). Hal ini berarti data berasal dari sumber keragaman yang sama (homogen). Selanjutnya dilakukan uji ANAVA satu arah untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil uji ANAVA satu arah dapat dilihat pada tabel 5.10.

Tabel 5.10 Hasil uji Anava satu arah pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) dan perendaman saliva buatan pH 5,5 terhadap jumlah monomer sisa.

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	2	6,880E-02	3,440E-02	5632,564	0,000
Dalam perlakuan	21	1,282E-04	6,107E-06		
Total	23	6,893E-02			

Dari tabel 5.10 diketahui bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan pada berbagai lama penyinaran dengan nilai $p < 0,05$.

Untuk mengetahui pasangan perlakuan yang bermakna dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD tampak pada tabel 5.11.

Tabel 5.11 Hasil uji LSD pengaruh peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) dan perendaman saliva buatan pH 5,5 terhadap jumlah monomer sisa.

Perlakuan	Beda rerata	P
Sesudah direndam saliva buatan pH 5,5 antara lama penyinaran :		
20 detik – 40 detik	0,0635	0,000
20 detik – 60 detik	0,13113	0,000
40 detik – 60 detik	0,067625	0,000

Dari hasil uji LSD (tabel 5.11) diketahui bahwa :

- Seluruh pasangan perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna yaitu $p < 0,05$.
- Perbedaan bermakna berarti peningkatan lama penyinaran akan mempengaruhi jumlah monomer sisa.

- c. Pasangan perlakuan yang mempunyai perbedaan paling bermakna adalah antara lama penyinaran 20 detik dengan 60 detik dengan nilai beda rerata 0,13113.

5.2.1.4 Analisis pengaruh perbedaan pH saliva buatan sebagai larutan perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 20 detik terhadap jumlah monomer sisa

Uji Levene untuk mengetahui homogenitas data sebesar 1,573 dengan tingkat signifikansi 0,231 ($p > 0,05$) artinya data bersifat homogen, sehingga bisa dilanjutkan dengan uji ANAVA satu arah untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pada lama penyinaran 20 detik. Hasil uji ANAVA satu arah adalah sebagai berikut :

Tabel 5.12 Hasil uji Anava satu arah pengaruh perbedaan pH saliva buatan (7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 20 detik terhadap jumlah monomer sisa.

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	2	0,174	8,675E-02	1537,040	0,000
Dalam perlakuan	21	1,185E-03	5,644E-05		
Total	23	0,175			

Dari tabel 5.12 tampak probabilitas 0,000 ($p < 0,05$) artinya ada perbedaan antar perlakuan dari pH saliva buatan 7 dengan pH saliva buatan 5,5 pada resin komposit dengan lama penyinaran 20 detik.

Selanjutnya dilakukan uji LSD untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang bermakna. Hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.13.

Tabel 5.13 Hasil uji LSD pengaruh perbedaan pH saliva buatan (7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 20 detik terhadap jumlah monomer sisa.

Perlakuan	Beda rerata	P
Sesudah dikuring 20'' – sesudah direndam pH 7, lama penyinaran 20''	0,029375	0,000
Sesudah dikuring 20'' – sesudah direndam pH 5,5, lama penyinaran 20''	0,19325	0,000
Sesudah direndam pH 7 lama penyinaran 20'' - sesudah direndam pH 5,5 lama penyinaran 20''	0,16388	0,000

Dari tabel 5.13 tampak bahwa ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara masing-masing pH saliva buatan (pH 7 dan 5,5) dengan kata lain perbedaan pH saliva buatan sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 20 detik akan mempengaruhi jumlah monomer sisanya.

5.2.1.5 Analisis pengaruh perbedaan pH saliva buatan sebagai larutan perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 40 detik terhadap jumlah monomer sisa

Hasil uji homogenitas diperoleh nilai 2,359 dengan tingkat signifikansi 0,119 ($p > 0,05$). Hal ini berarti data berasal dari sumber keragaman yang sama (homogen). Selanjutnya dapat dilanjutkan dengan uji ANAVA satu arah, hasilnya tampak sebagai berikut :

Tabel 5.14 Hasil uji Anava satu arah pengaruh perbedaan pH saliva buatan (7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 40 detik terhadap jumlah monomer sisa.

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	2	0,04382	2,191E-02	1321,198	0,000
Dalam perlakuan	21	3,482E-04	1,658E-05		
Total	23	4,417E-02			

Hasil uji ANAVA satu arah menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti terdapat perbedaan antar perlakuan yaitu pH 7 dan 5,5.

Untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang bermakna dilanjutkan uji LSD, hasilnya terlihat pada tabel 5.15.

Tabel 5.15 Hasil uji LSD pengaruh perbedaan pH saliva buatan (7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 40 detik terhadap jumlah monomer sisa.

Perlakuan	Beda rerata	P
Sesudah dikuring 40'' – sesudah direndam pH 7, lama penyinaran 40''	2,8625E-02	0,000
Sesudah dikuring 40'' – sesudah direndam pH 5,5, lama penyinaran 40''	0,110150	0,000
Sesudah direndam pH 7 lama penyinaran 40'' - sesudah direndam pH 5,5 lama penyinaran 40''	7,2875E-02	0,000

Hasil uji LSD tabel 5.15 menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antar masing-masing kelompok pH saliva buatan yaitu $p < 0,05$. Hal ini berarti perbedaan pH saliva buatan sebagai larutan perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 40 detik akan mempengaruhi jumlah monomer sisa.

5.2.1.6 Analisis pengaruh perbedaan pH saliva buatan sebagai larutan perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 60 detik terhadap jumlah monomer sisa

Uji homogenitas data dengan menggunakan uji Levene diperoleh nilai 5,656 dan tingkat signifikansi 0,011 ($p < 0,05$). Hal ini berarti data tidak berasal dari sumber keragaman yang sama (tidak homogen). Dengan demikian pengujian dengan menggunakan ANAVA tidak dapat digunakan. Oleh karena itu untuk melihat perbedaan dilakukan uji Kruskal Wallis, jika terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Hasil uji Kruskal Wallis sebagai berikut.

Tabel 5.16 Hasil uji Kruskal Wallis pengaruh perbedaan pH saliva buatan (7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 60 detik terhadap jumlah monomer sisa.

Perlakuan	Mean rank	Chi square	P
Sesudah dikuring 60 detik	20,50	20,516	0,000
Sesudah dikuring 60 detik dan direndam saliva buatan pH 7	12,50		
Sesudah dikuring 60 detik dan direndam saliva buatan pH 5,5	4,50		

Hasil uji Kruskal Wallis (tabel 5.16) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan perendaman pH saliva buatan pH 7 dan 5,5 terhadap jumlah monomer sisa dengan lama penyinaran resin komposit sinar tampak 60 detik ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui perbedaan antar pasangan perlakuan mana yang bermakna, dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Hasil uji selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.17.

Tabel 5.17 Hasil uji Mann Whitney pengaruh perbedaan pH saliva buatan (7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran 60 detik terhadap jumlah monomer sisa.

Pasangan perlakuan	Nilai U	P
Sesudah kuring 60'' – sesudah kuring 60'' Direndam saliva buatan pH 7	0,000	0,000
Sesudah kuring 60'' – sesudah kuring 60'' direndam saliva buatan pH 5,5	0,000	0,000
Sesudah kuring 60'' direndam saliva buatan pH 7 – sesudah kuring 60'' direndam saliva buatan pH 5,5	0,000	0,000

Pengujian Mann Whitney menunjukkan bahwa seluruh pasangan perlakuan mempunyai perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

5.2.2 Analisis Hasil Uji Sitotoksisitas Resin Komposit Sinar Tampak

Sebelum dilakukan uji parametrik, untuk mengetahui kemaknaan perbedaan yang ada perlu dilakukan uji normalitas data dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* (lampiran). Hasilnya seluruh kelompok mempunyai nilai probabilitas lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) artinya seluruh kelompok berdistribusi normal, sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik.

5.2.2.1 Analisa densitas optik formasan antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 7 dan saliva buatan pH 5.5

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji ANAVA satu arah. Sebelumnya perlu dilakukan uji Levene untuk mengetahui homogenitas data. Dari uji Levene diperoleh nilai 1,600 dan signifikansi 0,213 ($p > 0,05$) artinya data bersifat homogen.

Hasil uji ANAVA satu arah dapat dilihat sebagai berikut :

Tabel 5.18 Hasil uji Anava satu arah densitas optik formasan antara kontrol sel + media, paparan saliva buatan pH 7 dan pH 5,5.

Sumber variasi	db	Jumlah kuadrat	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	2	0,504	0,252	3434,968	0,000
Dalam perlakuan	45	3,303E-03	7,340E-05		
Total	47	0,508			

Dari tabel 5.18 diketahui bahwa probabilitas 0,000 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan bermakna antar semua perlakuan. Untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang berbeda bermakna dilanjutkan uji LSD. Hasil uji LSD terlihat pada tabel 5.18.

Tabel 5.19 Hasil uji LSD densitas optik formasan antara kontrol sel + media, paparan saliva buatan pH 7 dan pH 5,5.

Perlakuan	Beda rerata	P
Sel + media – pH 7	0,20800	0,000
Sel + media – pH 5,5	0,22575	0,000
pH 7 – pH 5,5	1,7750E-02	0,000

Pengujian LSD tabel 5.19 menunjukkan bahwa :

- a. Seluruh pasangan perlakuan berbeda bermakna ($p < 0,05$) artinya perbedaan pH saliva buatan sebagai perendam resin komposit sinar tampak akan mempengaruhi densitas optik formasan.
- b. Pasangan perlakuan yang paling berbeda adalah antara pasangan pH pada sel + media dengan saliva buatan pH 5,5.

5.2.2.2 Analisa densitas optik formasan antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 7 dan saliva buatan pH 7 yang terpapar resin komposit sinar tampak dengan peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik)

Hasil uji Levene menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) artinya data tidak homogen oleh karena itu dilakukan uji Kruskal Wallis untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Hasil uji Kruskal Wallis adalah sebagai berikut.

Tabel 5.20 Hasil uji Kruskal Wallis antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 7 dan resin komposit dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik yang direndam dalam saliva buatan pH 7 terhadap densitas optik formasan.

Perlakuan	Mean rank	Chi square	P
Kontrol sel + media	72,50	68,564	0,000
Kontrol pH 7	54,28		
Saliva buatan pH 7, penyinaran 20 detik	9,69		
Saliva buatan pH 7, penyinaran 40 detik	28,78		
Saliva buatan pH 7, penyinaran 60 detik	37,25		

Dari tabel 5.20 tentang uji Kruskal Wallis diketahui bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan yaitu kontrol sel media, saliva buatan pH 7 dan saliva buatan pH 7 yang terpapar resin komposit dengan peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) terhadap densitas optik formasan ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang berbeda bermakna dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Hasil uji selengkapnya tampak pada tabel 5.21.

Tabel 5.21 Hasil uji Mann-Whitney antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 7 dan resin komposit dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik yang direndam dalam saliva buatan pH 7 terhadap densitas optik formasan.

Pasangan perlakuan	Nilai U	P
Kontrol sel media – kontrol pH 7	0,000	0,000
Kontrol sel media – saliva buatan pH 7, penyinaran 20''	0,000	0,000
Kontrol sel media – saliva buatan pH 7, penyinaran 40''	0,000	0,000
Kontrol sel media – saliva buatan pH 7, penyinaran 60''	0,000	0,000
Kontrol pH 7 – saliva buatan pH 7, penyinaran 20''	0,000	0,000
Kontrol pH 7 – saliva buatan pH 7, penyinaran 40''	0,000	0,000
Kontrol pH 7 – saliva buatan pH 7, penyinaran 60''	35,500	0,000
Saliva buatan pH 7, penyinaran 20'' – saliva buatan pH 7 penyinaran 40''	4,000	0,000
Saliva buatan pH 7, penyinaran 20'' – saliva buatan pH 7 penyinaran 60''	15,000	0,000
Saliva buatan pH 7, penyinaran 40'' – saliva buatan pH 7 penyinaran 60''	72,500	0,036

Pengujian Mann Whitney (tabel 5.21) menunjukkan bahwa seluruh pasangan perlakuan mempunyai nilai $p < 0,05$ artinya berbeda bermakna.

Perbedaan bermakna menunjukkan bahwa peningkatan lama penyinaran akan mempengaruhi densitas optik formasan pada saliva buatan dengan pH 7.

5.2.2.3 Analisis densitas optik formasan antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 5,5 dan saliva buatan pH 5,5 yang terpapar resin komposit sinar tampak dengan peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik)

Hasil uji Levene menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) artinya data tidak homogen oleh karena itu dilakukan uji Kruskal Wallis untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Hasil uji Kruskal Wallis adalah sebagai berikut.

Tabel 5.22 Hasil uji Kruskal Wallis antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 5,5 dan resin komposit dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik yang direndam dalam saliva buatan pH 5,5 terhadap densitas optik formasan.

Perlakuan	Mean rank	Chi square	P
Kontrol sel + media	72,50	71,579	0,000
Kontrol pH 5,5	54,53		
Saliva buatan pH 5,5, penyinaran 20 detik	11,13		
Saliva buatan pH 5,5, penyinaran 40 detik	22,44		
Saliva buatan pH 5,5, penyinaran 60 detik	41,91		

Dari tabel 5.22 tentang uji Kruskal Wallis diketahui bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan yaitu kontrol sel media, saliva buatan pH 5,5 dan saliva buatan pH 5,5 yang terpapar resin komposit dengan peningkatan lama penyinaran (20, 40, 60 detik) terhadap densitas optik formasan ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang berbeda bermakna dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Hasil uji selengkapnya tampak pada tabel 5.23.

Tabel 5.23 Hasil uji Mann-Whitney antara kontrol sel + media, saliva buatan pH 5,5 dan resin komposit dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik yang direndam dalam saliva buatan pH 5,5 terhadap densitas optik formasan.

Pasangan perlakuan	Nilai U	P
Kontrol sel media – kontrol pH 5,5	0,000	0,000
Kontrol sel media – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 20''	0,000	0,000
Kontrol sel media – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 40''	0,000	0,000
Kontrol sel media – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 60''	0,000	0,000
Kontrol pH 5,5 – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 20''	0,000	0,000
Kontrol pH 5,5 – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 40''	1,500	0,000
Kontrol pH 5,5 – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 60''	30,000	0,000
Saliva buatan pH 5,5, penyinaran 20'' – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 40''	42,000	0,001
Saliva buatan pH 5,5, penyinaran 20'' – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 60''	0,000	0,000
Saliva buatan pH 5,5, penyinaran 40'' – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 60''	7,500	0,036

Pengujian Mann Whitney (tabel 5.23) menunjukkan bahwa seluruh pasangan perlakuan mempunyai nilai $p < 0,05$ artinya berbeda bermakna.

Perbedaan bermakna menunjukkan bahwa peningkatan lama penyinaran akan mempengaruhi densitas optik formasan pada saliva buatan dengan pH 5,5.

5.2.2.4 Pengaruh perbedaan pH saliva buatan sebagai larutan perendam resin komposit sinar tampak dengan lama penyinaran yang sama terhadap densitas optik formasan

Untuk mengetahui perbedaan densitas optik formasan karena pengaruh perbedaan pH saliva buatan maka dianalisis dengan menggunakan uji t dua sampel bebas. Hasil uji t selengkapnya terlihat pada tabel 5.24.

Tabel 5.24 menunjukkan bahwa :

- a. Terdapat perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) antara saliva buatan pH 7 dan pH 5,5.
- b. Terdapat perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) antara saliva buatan pH 7 dan pH 5,5, lama penyinaran 20 detik.
- c. Terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara saliva buatan pH 7 dan pH 5,5, lama penyinaran 40 detik.
- d. Terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara saliva buatan pH 7 dan pH 5,5, lama penyinaran 60 detik.
- e. Dilihat dari mean hitung maka densitas optik formasan lebih besar pada saliva buatan pH 7 pada semua perlakuan baik lama penyinaran 20, 40 dan 60 detik. Hal ini menunjukkan bahwa saliva buatan pH 7 sebagai larutan perendam resin komposit menghasilkan densitas optik formasan yang lebih baik dibandingkan dengan saliva buatan pH 5,5.

Tabel 5.24 Hasil uji t dua sampel bebas pengaruh perbedaan pH saliva buatan (pH 7 dan 5,5) sebagai perendam resin komposit sinar tampak terhadap densitas optik formasan.

No	Perlakuan	Mean	t hitung	P
1	Saliva buatan pH 7 – saliva buatan pH 5,5	$0,12019 - 0,10244 = 0,01775$	7,667	0,107
2	Saliva buatan pH 7 – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 20''	$0,08919 - 0,08475 = 0,0044375$	5,281	0,794
3	Saliva buatan pH 7 – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 40''	$0,09750 - 0,08894 = 0,008562$	8,181	0,024
4	Saliva buatan pH 7 – saliva buatan pH 5,5, penyinaran 60''	$0,10650 - 0,09663 = 0,0098750$	3,519	0,000

BAB 6

PEMBAHASAN

TESIS

BAB 6 PEMBAHASAN

Penelitian yang berjudul “Lama penyinaran dan perendaman saliva buatan terhadap kadar monomer sisa metil metakrilat resin komposit sinar tampak dan sitotoksitasnya” adalah eksperimental laboratoris (*true experimental*). Tiga prinsip harus dipenuhi untuk penelitian jenis eksperimental laboratoris yaitu replikasi, randomisasi dan kontrol/pembanding, sedangkan rancangan penelitian ini adalah *the post-test only group control design*, karena pada penelitian ini tanpa pengukuran awal (*pre test*).

Pemeriksaan kimiawi merupakan tahap paling awal yang mutlak dikerjakan sebelum melakukan pemeriksaan biokompatibilitas suatu bahan. Resin komposit merupakan polimer yang tersusun dari beberapa komponen bahan atau senyawa, yang pada setiap polimerisasi dapat terbentuk monomer sisa. Monomer sisa adalah sisa monomer yang tidak ikut terpolimerisasi karena polimerisasi yang tidak sempurna (Annusavice, 1996).

Empat komponen penyusun resin komposit yaitu matriks polimer organik pengisi an organik, *coupling agent* dan *initiator-accelerator system*. Polimer organik atau oligomer yang sering digunakan adalah dimetakrilat (*Bis-GMA*) 2,2-bis[4{2-hidroxy-3 methacryloyloxy-propyloxy)-phenyl] propene dan *urethane dimethacrylate* (UDMA) yang mempunyai viskositas tinggi (Craig dan Power, 2002). Sebagai pengontrol viskositas ditambahkan seperti *methyl methacrylate* (MMA), *triethylene glycol dimethacrylate* (TEGDMA), *Ethylene glycol dimethacrylate* (EDMA) (Noort, 1994).

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan jumlah monomer sisa yang merupakan salah satu metode yang dapat untuk mengevaluasi sifat kimia bahan restorasi resin komposit. Adanya monomer sisa menunjukkan proses polimerisasi yang tidak sempurna. Monomer sisa dari resin komposit masih belum diketahui, tetapi diperkirakan adalah monomer resin komposit yang tidak terpolimerisasi. Pada penelitian ini peneliti menggunakan metil metakrilat sebagai standart untuk mengetahui jumlah monomer sisa, dimana metil metakrilat merupakan salah satu monomer penyusun resin komposit sinar tampak.

Polimerisasi dari resin komposit sinar tampak, tergantung jarak komposit dengan sinar dan lama penyinaran. Lama penyinaran juga dibutuhkan untuk kedalaman cure yang adekuat. Intensitas sinar pada permukaan adalah faktor kritis sepenuhnya *cure* pada permukaan dan kedalaman bahan. Ujung dari sumber sinar diletakkan 1 mm dari permukaan untuk memperoleh penetrasi sinar yang optimum (Craig & Power, 2002).

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro*, sehingga keadaannya sangat berlainan dengan rongga mulut. Di dalam rongga mulut sering terjadi perubahan pH dan selalu terjadi gerakan pengunyahan, oleh karena itu penelitian ini diupayakan sesuai dengan kondisi dalam mulut yaitu dengan merendam resin komposit dalam saliva buatan dengan berbagai pH.

Untuk pengukuran kadar monomer sisa digunakan alat kromatografi gas (Hewlet Packard tipe 5890 seri II). Dari kromatogram diperoleh waktu tambat metil metakrilat 5,267 menit. Disamping metil metakrilat kemungkinan masih terdapat monomer sisa yang lain. Hal ini tampak pada kromatogram, dimana terdapat *peak* dengan waktu tambat lebih dari 5,267 menit. Hasil uji pengukuran

jumlah monomer sisa resin komposit sinar tampak dengan standart metil metakrilat menunjukkan adanya penurunan persentase monomer sisa yang dihasilkan dengan peningkatan lama penyinaran. Baik pada resin komposit sinar tampak tanpa perendaman maupun dengan perendaman dalam saliva buatan pH 7 dan pH 5,5.

Rerata persentase monomer sisa terbesar pada masing-masing perlakuan baik tanpa perendaman maupun setelah perendaman dalam saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 adalah pada lama penyinaran 20 detik, sedangkan terkecil pada lama penyinaran 60 detik. Hasil uji Anava satu arah dari masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan adanya peningkatan lama penyinaran (tabel 5.6, tabel 5.8, tabel 5.10).

Fenomena ini berarti dengan meningkatkan lama penyinaran resin komposit akan menurunkan monomer sisa. Hal ini karena adanya peningkatan lama penyinaran maka energi sinar untuk mengaktivasi proses polimerisasi akan meningkat. Energi yang ditimbulkan akan menentukan derajat polimerisasi (Sakaguchi dkk, 1992). Dengan meningkatnya energi sinar, jumlah photon yang akan menginisiasi pembentukan radikal bebas bebas akan meningkat. Semakin meningkatnya radikal bebas maka derajat polimerisasi akan meningkat sehingga monomer sisa yang terbentuk menurun (Annusavice, 1996).

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa dengan peningkatan lama penyinaran akan menghasilkan penurunan monomer sisa yang secara statistik terdapat perbedaan bermakna (tabel 5.7, 5.9, 5.11). Hal ini disebabkan adanya peningkatan lama penyinaran akan meningkatkan kalori dari panas yang dihasilkan oleh sinar tampak, sehingga meningkatkan derajat polimerisasi.

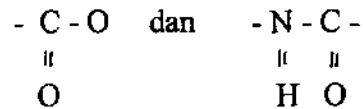
Lama penyinaran mempunyai peranan besar terhadap proses polimerisasi resin komposit sinar tampak. Dengan peningkatan lama penyinaran, kalori yang ditimbulkan oleh panas selama penyinaran akan mempercepat reaksi termo-kimia. Pada saat berlangsungnya reaksi termo-kimia, faktor termis dari luar dapat mempengaruhi reaksi polimerisasi (Killian, 1991 cit Leksono, 1993). Hal ini didukung pernyataan Kawaguchi (1996) bahwa lamanya penyinaran adalah suatu metode yang sangat berguna untuk mengurangi komponen monomer sisa, temperatur dalam saluran *light curing* akan terpancar, karena panas dari sumber sinar.

Pearson dan Longman (1989) menyatakan bahwa polimerisasi yang tidak sempurna terhadap bahan restorasi yang berbahan dasar resin dapat disebabkan oleh penyinaran bahan yang tidak adekuat. Akibat dari proses polimerisasi yang tidak sempurna menyebabkan monomer tidak dapat bereaksi menjadi rantai polimer dan menyebabkan peningkatan monomer sisa. Keadaan ini akan mempengaruhi derajat polimerisasi dan masa molekul relatif, makin banyak monomer sisa yang ada maka derajat polimerisasi dan masa molekul relatif makin menurun (Ruslan, 1993).

Rerata persentase jumlah monomer sisa antara perlakuan tanpa perendaman dan setelah perendaman saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 dengan lama penyinaran yang sama, masing-masing menunjukkan penurunan jumlah monomer sisa. Jadi jumlah monomer sisa terkecil untuk lama penyinaran 20 detik, 40 detik, 60 detik adalah setelah perendaman saliva buatan pH 5,5. Jika dibandingkan secara keseluruhan jumlah monomer sisa yang terkecil pada lama penyinaran 60 detik pH 5,5 (tabel 5.1) sebesar 0,14% B/V. Sedangkan jumlah

monomer sisa yang ada setelah perendaman saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 secara umum lebih sedikit pada pH 5,5. Hal ini berarti monomer sisa setelah polimerisasi lebih banyak yang terlepas pada perendaman saliva buatan pH 5,5 daripada pH 7. Kemungkinan disebabkan adanya pelepasan dari komponen komposit yang terjadi pada dua titik waktu yaitu pada waktu setting dan pada waktu mengalami degradasi. Pelepasan pada proses awal dihubungkan dengan derajat konversi atau rantai oligomer menjadi polimer. Setelah polimerisasi, terjadi degradasi hidrolitik yang mampu melepaskan bahan resin (Hanks et al, 1991).

Menurut Williams (1990) bahwa polimer mengandung ikatan yang tidak stabil yang mudah terhidrolisis pada pH rendah, khususnya kelompok



dan hidrolisis terjadi karena pengaruh pH dan temperatur. Derajat degradasi dipengaruhi oleh gambaran struktur, variasi lingkungan dan kondisi tes, meliputi pH, perawatan penguat logam campur dan penggunaan kekuatan mekanis. Dengan demikian jumlah monomer sisa yang ada tanpa perendaman dan setelah perendaman sehari dalam saliva buatan pH 7 dan pH 5,5, kemudian direndam dalam metil etil keton selama 4 hari semakin menurun karena adanya peningkatan pelepasan monomer sisa ke dalam larutan perendam.

Hasil uji Anava satu arah jumlah monomer sisa antara perlakuan tanpa perendaman dan setelah perendaman saliva buatan pH 7 dan pH 5,5, dengan lama penyinaran 20 detik, 40 detik, masing-masing menunjukkan perbedaan yang bermakna. Fenomena ini terjadi karena resin komposit mempunyai struktur rantai aromatik, bersifat kompak, reaktivitas kimia tidak terlalu tinggi dan lebih toksik

dibandingkan struktur alifatik. Reaktivitas kimia suatu bahan berhubungan dengan kemampuan bahan tersebut bereaksi dengan lingkungannya (misal air) untuk membentuk suatu hasil akhir atau bahan lain. Bahan kimia yang reaktivitasnya rendah cenderung tidak mudah mengalami *leaching*/pelepasan ke lingkungan sekitarnya (Siswomihardjo, 1999).

Reaksi hidrolisis merupakan proses terputusnya rantai polimer karena adanya H₂O yang terjadi antara lain dengan adanya katalisator asam atau basa. Senyawa ini mudah mengalami proses hidrolisis apabila lingkungan bersifat asam atau basa. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini (Siswomihardjo, 1999). Saliva merupakan media yang dapat menyebabkan komponen monomer mengalami pelepasan dengan proses yang lambat dan periode perendaman yang lama. Tetapi pelepasan komponen ini lebih besar pada larutan organik (Kawaguchi, 1996). Proses pelepasan karena terjadinya difusi sekitar resin. Proses difusi memerlukan waktu yang panjang (Soderholm, 1984).

Proses pelepasan yang terjadi sifatnya cepat terutama pada awal perendaman saliva buatan, dan termasuk reaksi autokatalitik. Rongga mulut merupakan lingkungan yang baik untuk terjadinya degradasi daripada dengan perendaman dalam air. Hal ini karena komponen biologik (organik) terdapat di dalam saliva dan dilengkapi bentukan *pellicle* serta plak yang melapisi restorasi komposit, secara klinis pelepasan akan lebih besar daripada penelitian in vitro (Soderholm, dkk, 1996). *Acquired pellicle* saliva dapat berfungsi sebagai barier untuk difusi monomer sisa (Sadamori, 1992).

Hasil uji LSD jumlah monomer sisa antara perlakuan tanpa perendaman dan setelah perendaman saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 dengan lama penyinaran

20 detik dan 40 detik menunjukkan perbedaan yang bermakna. Sedangkan untuk lama penyinaran 60 detik dari uji Levene diperoleh bahwa data tidak homogen sehingga dilakukan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji Man Whitney. Hasil menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Fenomena ini terjadi karena lamanya penyinaran menyebabkan timbulnya kalori/energi yang dapat mempengaruhi proses polimerisasi. Energi menyebabkan reaksi termo-kimia. Pada saat berlangsungnya reaksi termo-kimia, faktor termis dari luar mempengaruhi reaksi polimerisasi yang sedang terjadi. Adanya peningkatan lama penyinaran, kalori yang dihasilkan meningkat, akan tetapi energi tersebut tidak sesuai dengan energi yang dibutuhkan untuk mengaktifkan bahan inisiator. Akan tetapi tetap dapat mempengaruhi reaksi polimerisasi yang sedang berlangsung (Leksono, 1993). Adanya faktor termis dari luar menyebabkan terjadinya keragaman derajat polimerisasi.

Dalam penelitian ini uji korelasi atau regresi tidak dapat digunakan untuk mengukur hubungan/korelasi antara jumlah monomer sisa tanpa perendaman dan setelah perendaman saliva buatan pH 7 dan pH 5,5. Hal ini karena spesimen yang dianalisis untuk mengukur jumlah monomer sisa tanpa perendaman tidak dapat digunakan untuk mengukur jumlah monomer sisa setelah perendaman saliva buatan pH 7 dan pH 5,5.

Beberapa uji *in vitro* untuk biokompatibilitas menggunakan aktivitas biosintetik atau enzimatik dari sel untuk menentukan respon sitotoksitas. Uji yang mengukur sintesa DNA (asam deoksiribonukleat) atau protein oleh sel biasanya dianalisa dengan penambahan prekursor yang dilabeli radioisotop (yaitu $^3\text{H-thymidine}$ atau $^3\text{H-Leucine}$) yang menyatu ke dalam DNA atau protein. Saat

ini yang sering digunakan untuk uji enzimatik terhadap sitotoksitas adalah uji MTT (Craig dan Powers, 2002).

Uji MTT dapat mengukur aktivitas dari enzim dehidrogenase seluler, melalui sejumlah bahan yang direduksi tingkat selular. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan dari MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] atau garam tetrazolium yang berwarna kuning dan bersifat larut menjadi senyawa formasan yang berupa endapan berwarna biru dan tidak larut (Kasugai, Hasegawa, Ogura, 1991; Craig dan Powers, 2002; Fazwishni dan Hadijono, 2002). Garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktivitas metabolik, yang mempunyai peranan penting dalam hal ini adalah mitokondria dari sel hidup (*viable*) yang menghasilkan enzim dehidrogenase. Bila dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka formasan tidak akan terbentuk.

Produk formasan dapat dihitung melalui bahan yang terlarut dan mengukur densitas optikal dari larutan yang dihasilkan (Craig dan Powers, 2002). Aktivitas dehidrogenase dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 570 nm (Telli dkk, 1999). Esei kolorimetri ini mengukur aktivitas dehidrogenase yang memberikan suatu indikasi dari respirasi sel, sehingga esei ini mengukur perubahan aktivitas metabolik dari sel dan tidak selalu menunjukkan perubahan jumlah sel (Kasugai, Hasegawa, Ogura, 1991).

Resin komposit merupakan suatu bahan yang merupakan kombinasi fase organik dan anorganik. Secara *in vitro* resin yang dikuring dengan sinar maupun secara kimia menyebabkan reaksi sitotoksitas sedang bila dipaparkan pada kultur sel selama 24 – 72 jam. Sitotoksitas menurun pada 24 – 48 jam setelah

setting. Sitotoksitas ini karena terlepasnya komponen resin dari bahan yang tidak mengalami polimerisasi. Komposit baru dengan non-bis GMA non UDMA sitotoksitasnya lebih rendah secara *in vitro*, karena jumlah komponen yang terlepas lebih rendah. Terbukti bahwa komponen komposit berbahan dasar metakrilat menyebabkan derajat hipersensitivitas yang signifikan, namun sedikit percobaan klinis yang ada (Craig dan Powers, 2002).

Dari hasil penelitian diperoleh rerata densitas optik formasan pada kultur sel BHK-21 yang terpapar oleh resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 dengan lama penyinaran 20, 40, 60 detik, diperoleh nilai tertinggi pada lama penyinaran 60 detik dengan perendaman saliva buatan pH 7 yaitu 0,106 (45,9%). Sedangkan densitas optik terendah pada lama penyinaran 20 detik dengan perendaman saliva buatan pH 5,5 yaitu 0,084 (40,7%). Persentase sitotoksitas terendah sebesar 54,1% pada lama penyinaran 60 detik dengan perendaman saliva buatan pH 7, sedangkan sitotoksitas terbesar adalah 59,3% pada lama penyinaran 20 detik dengan perendaman saliva buatan pH 5,5 (tabel 5.3).

Sitotoksitas resin komposit sinar tampak dapat diketahui dengan menghitung selisih antara densitas optik kontrol pH saliva buatan dengan densitas optik resin komposit sinar tampak yang direndam dalam saliva buatan pH 7 dan pH 5,5 (tabel 5.4). Sitotoksitas resin komposit sinar tampak mengalami penurunan dengan adanya peningkatan lama penyinaran. Hal ini tampak bahwa sitotoksitas terbesar pada lama penyinaran 20 detik, terendah pada lama penyinaran 60 detik, baik pada saliva buatan pH 7 maupun pH 5,5. Secara keseluruhan nilai sitotoksitasnya kurang dari 50%. Hal ini didukung Telli (1999)

bahwa sitotoksisitas dilihat dari nilai persentase densitas optik. Nilai CD 50 digunakan sebagai ekspresi dari sitotoksisitas. Nilai kurang dari CD 50 dianggap bersifat tidak sitotoksik.

Keadaan di atas disebabkan dengan peningkatan lama penyinaran maka energi sinar untuk mengaktivasi proses polimerisasi akan meningkat. Energi yang ditimbulkan akan menentukan derajat polimerisasi (Sakaguchi dkk, 1992). Makin meningkatnya energi sinar maka jumlah photon yang akan menginisiasi pembentukan radikal bebas akan meningkat (Annusavice, 1996). Meningkatnya jumlah radikal bebas menyebabkan polimerisasi mendekati sempurna sehingga monomer sisa menjadi lebih sedikit. Menurut Tang dkk (1999) bahwa jumlah monomer sisa pada bahan yang *dicure* berhubungan dengan model polimerisasi dari bahan resin, sekaligus berhubungan dengan sifat sitotoksisitas bahan tersebut. Monomer sisa dari bahan akan terlepas ke dalam lingkungan yang bersifat cair (saliva buatan) sehingga menghasilkan respon pada tempat yang kontak dengan resin (Lefebvre, 1994). Hal ini didukung oleh pendapat Craig dan Powers (2002) bahwa sitotoksisitas karena komponen utama yang tidak terpolimerisasi pada lapisan penghambat udara terlepas dari bahan. Komponen komposit yang berbasis metakrilat dapat menyebabkan hipersensitivitas.

Rerata densitas optik kontrol pH saliva buatan menurun dari pH 7 ke pH 5,5 dibandingkan dengan kontrol sel + media, artinya sitotoksisitas kontrol pH saliva buatan meningkat dari pH 7 ke pH 5,5 (tabel 5,4). Penurunan densitas optik tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna, tampak pada uji Anava dan LSD (tabel 5.18 dan 5.19).

Densitas optik resin komposit sinar tampak diperoleh dari selisih antara densitas optik resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan dengan densitas optik saliva buatan. Tampak bahwa densitas optik resin komposit sinar tampak mengalami peningkatan dari pH 7 ke pH 5,5, artinya sitotoksitasnya menurun dari pH 7 ke pH 5,5 (tabel 5.4). Tetapi penurunan pH saliva buatan tidak menurunkan densitas optik resin komposit sinar tampak, sebaliknya semakin meningkatkan. Hal ini kemungkinan karena pengaruh derajat keasaman (pH) terhadap pertumbuhan kultur. Pertumbuhan optimal dari kultur pada pH 7,2 – 7,4 (Paul, 1975). Penurunan pH menyebabkan kematian sel, semakin rendah pH semakin tinggi kematian sel. Jadi dalam hal ini sitotoksitas yang dihasilkan resin komposit sinar tampak karena pengaruh pH, dimana pH 5,5 tidak menguntungkan untuk pertumbuhan sel.

Pemeriksaan eluat dengan esei MTT menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan dari aktifitas enzim setelah 4 jam, menurun setelah 24 - 48 jam. Hal ini tidak hanya berhubungan dengan jumlah komponen toksik tetapi karena sifatnya mudah menguap dan faktor lain yang mudah mempengaruhi. Bahan lebih toksik pada sampel baru, dan mudah berubah dalam kultur. Dengan merendam sampel, komponen dapat turun atau hilang sehingga respon toksik akut tidak terbukti (Lefebvre dkk, 1994).

Hasil uji Kruskal-Wallis tentang pengaruh peningkatan lama penyinaran resin komposit sinar tampak yang direndam dalam saliva buatan terhadap densitas optik menunjukkan perbedaan bermakna, baik pada saliva buatan pH 7 maupun pH 5,5 (tabel 5.20 dan tabel 5.22). Artinya dengan memperpanjang lama penyinaran akan meningkatkan nilai densitas optik. Sebagaimana telah dijelaskan

di depan bahwa lama penyinaran mempunyai peranan terhadap proses polimerisasi resin komposit sinar tampak. Dengan peningkatan lama penyinaran maka kalori yang ditimbulkan oleh panas selama penyinaran akan lebih mempercepat terjadinya reaksi termo-kimia (Killian, 1981 cit Leksono, 1993). Meningkatnya energi sinar menyebabkan jumlah bahan inisiator yang tereksitasi lebih banyak dan reaksi polimerisasi yang terjadi berjalan lebih sempurna. Semakin sempurna proses polimerisasi, semakin kecil monomer sisa.

Sitotoksitas karena adanya komponen yang tidak terpolimerisasi terlepas dari bahan resin komposit (Craig dan Powers, 2002). Pelepasan komponen resin terjadi setelah polimerisasi dan degradasi hidrolitik pada periode waktu yang lama. Jaringan lunak, bakteri esterase saliva dapat menyebabkan hidrolisis dari polimer (Hanks dkk, 1991). Jadi dengan berkurangnya monomer sisa bahan dapat mengurangi terlepasnya komponen yang tidak terpolimerisasi tersebut ke dalam kultur, sehingga dapat meningkatkan densitas optik (menurunkan sitotoksitas).

Menurut Ferracane dan Condon (1990) bahwa 50% dari bahan yang dapat terlepas dari komposit Silux diekstraksi dalam 3 jam pada perendam air dan 85% - 100% dalam 24 jam. Komponen resin komposit mempunyai efek terhadap lapisan lemak dari membran sel. Komponen yang mampu menyebabkan terbentuknya peroksida dari lemak adalah benzoil peroksida, metil metakrilat, etilene glikol dimetakrilat, TEGDMA, bis-glisidil metakrilat dan *2,2-bis-4-methacryloxyethoxy phenyl propane* (Hanks dkk, 1991).

Hasil uji t tentang pengaruh perbedaan pH saliva buatan dari pH tinggi ke rendah sebagai media perendam resin komposit sinar tampak terhadap densitas optik, menunjukkan adanya penurunan densitas optik dari pH 7 ke pH 5,5. Tidak

semua penurunan densitas optik berbeda bermakna (tabel 5.24). Resin komposit dengan lama penyinaran 20 detik dan direndam dalam saliva buatan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Keadaan ini disebabkan pengaruh pH terhadap pertumbuhan sel. Semakin turun pH semakin turun densitas optiknya.

Lama penyinaran 20 detik menghasilkan proses polimerisasi yang kurang sempurna dibandingkan dengan 40 detik dan 60 detik, sehingga monomer sisa yang dihasilkan adalah terbesar. Jumlah monomer sisa tinggi belum tentu melepaskan komponen yang tinggi juga. Hal ini sesuai dengan pendapat Kedjarune dkk (1994) bahwa resin yang mengandung jumlah monomer sisa lebih rendah akan melepaskan MMA yang lebih rendah setelah inkubasi dalam saliva, tetapi resin yang mengandung jumlah monomer sisa lebih tinggi tidak selalu melepaskan MMA lebih tinggi pula.

Perendaman resin komposit sinar tampak dalam saliva buatan pH 7 menghasilkan densitas optik yang lebih tinggi daripada pada saliva buatan pH 5,5. Artinya pH 5,5 lebih bersifat sitotoksik daripada pH 7. Pernyataan ini menjelaskan bahwa apabila resin komposit sinar tampak apabila direndam dalam saliva buatan pH 7, kemudian ekstraknya dipaparkan ke dalam kultur akan menghasilkan densitas optik yang lebih tinggi daripada pH 5,5. Dengan kata lain pH 7 kurang sitotoksik daripada pH 5,5 terhadap kultur sel. Tetapi berbeda dengan sitotoksitas resin komposit sinar tampak terhadap kontrol pH saliva buatan. Sitotoksitas resin komposit sinar tampak lebih bersifat sitotoksik pada saliva buatan pH 7 daripada pH 5,5 bila dibandingkan dengan kontrol pH saliva buatan.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

TESIS

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Hasil penelitian dan pembahasan menyimpulkan bahwa :

1. Lama penyinaran yang semakin meningkat yaitu 20, 40, 60 detik pada resin komposit sinar tampak akan menyebabkan semakin turun kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.
2. Perendaman resin komposit sinar tampak pada saliva buatan dengan pH yang berbeda yaitu pH 7 dan pH 5,5 akan menyebabkan semakin turun kadar monomer sisa metil metakrilat dan sitotoksitasnya.

7.2. Saran

1. Masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang faktor apa saja yang dapat mempengaruhi sitotoksitas resin komposit sinar tampak.
2. Masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh sitotoksitas resin komposit sinar tampak pada kultur sel yang berbeda dan yang lebih aplikatif dengan sel-sel jaringan mulut dan tanpa pengaruh derajat keasaman.

DAFTAR PUSTAKA

TESIS

DAFTAR PUSTAKA

- Amerongen, Michels, Roukema, Verman, 1988. *Ludah dan Kelenjar Ludah*, EGC, Jakarta, pp. 13-15.
- Annusavice, J.K, 1996. *Phillip's Science of Dental Materials*, 10th ed, W.B. Saunder's Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, pp. 69 - 298.
- Ardani W, Djokosalamoen S, Purnamasari I, 1999. *Biokompatibilitas Akrilik Jenis Cold Curing Tanpa dan Dengan Polyclaf (Dentaureum) pada Tekanan 2 atmosfer*, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, 13 - 40.
- Basset, dkk, 1979. *Vogel's Text Book of Quantitative in Organic Analysis*. 4th ed, The English Language Book Society and Longman Limited, London, 35.
- Blankenau RJ, Kelsey WP, Cavel WT, Blankenau P, 1983, *Wavelength and Intensity of Seven Systems for Visible Light-Curing Composite Resin : A Comparison Studi*, JADA, 106 : 471 – 477.
- Budi, 1993. *Kelarutan Email Gigi Dalam Larutan Buffer Asetat pH₄ Dengan Dasar Air PDAM Palembang Serta Dalam Kuah Pempek. Studi Laboratoris Dengan Pendekatan Kimiawi dan Mikroskopik Elektron*. Jakarta, EGC, 16.
- Combe, E.G, 1992. *Notes on Dental Materials*, 6th ed, Churchill, Livingstone, Edinburg, London, Melbourne, New York, pp. 39 - 44, 49 - 52, 152 - 166.
- Craig, R.G., 1997. *Restorative Dental Materials*. 7th edition, St. Louis, C.V Mosby Co., 130, 134, 137, 246.
- Craig RG, Powers JM, 2002. *Restorative Dental Material*, 11th ed, Mosby Co, 136 – 137, 155, 233, 244 – 245.
- Craig R.G., Peyton F.A., 1982. *Restorative Dental Materials*, 6th edition, C.V. Mosby Co., 55-71.
- Craig R.G., Ward M.L., 1997. *Restorative Dental Materials*, 10th ed, St. Louis, C.V. Mosby Co., 244-266.
- Effendy R, 1993. *Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Sifat Kimia, Fisik, Mekanik dan Biokompatibilitas*. Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Fazwishni S, Hadijono BS, 2000. *Uji Sitotoksitas dengan Esei MTT*, J Ked Gigi, Universitas Indonesia, 7 : 28 – 32.

- Freshney I.R., 1981. *Culture of Animal Cells*. New York : Allan R. Liss inc, 227-245.
- Glantz PO, 1998. *Biomaterial Considerations for The Optimized Therapy for The Edentulous Premedicament*, *J. Prosth. Dent.* 79 : 90 – 92.
- Hanks C.T, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG, 1991. *Cytotoxic Effects of Resin Components on Cultured Mammalian Fibroblast*, *J. Dent. Res* 70 (11) : 1450-1455.
- Harris R.S, 1968. *Art and Science of Dental Caries Research*, Academic Press, New York, San Fransisco, London, 43-48.
- Higgins J.E, Klimbaun A.D., 1985. *Determining Sample Size in Introduction to Randomized Clinical Trials*, USA : Family Health International, pp. 24-25.
- Hugget R, Brooks SC, Bates JF, 1984. *The Effect of Different Curing Cycles on Levels of Residual Monomer in Acrylic Resin Denture Base Materials*, *Quintessence Dent. Technol.* 8 : 365 – 370.
- Intan N, 2001. *Kandungan Monomer Sisa pada Resin Akrilik Rapid Heat Cured Dengan Proses Curing Berbeda*, *Maj. Ked. Gigi*, 34 : 119 – 121.
- Kasugai S, Hasegawa N, Ogura H, 1991. *Application of the MTT Colorimetric Assay to Measure Cytotoxic Effects of Phenolic Compounds on Established Rat Dental Pulp Cells*, *J. Dent. Res.*, 70 : 127 – 130.
- Kawaguchi M, Takahashi Y, Fukushima T, Habu T, 1996. *Effect of Light Exposure Duration on The Amount of Leachable Monomers from Light-Activated Reline Material*, *J. Prosth. Dent* 75 : 183 – 187.
- Kedjarune U, Charoenworluk N, Koontongkaews, 1999. *Release of Methyl Methacrylate from Heat-Cured and Autopolymerized Resins : Cytotoxycity Testing Related to Residual Monomer*, *Aust. Dent. J.* 44 : 25 – 30.
- Leksono, 1993. *Pengaruh Tegangan Listrik, Intensitas Sinar dan Waktu Penyinaran Terhadap Kekerasan Permukaan Resin Komposit Sinar Tampak*, Tesis Universitas Airlangga, Indonesia.
- Lefebvre CA, Knorenschild KI, Schuster GS, 1994. *Cytotoxicity of Eluates from Light-Polymerized Based Resins*, *J. Prosth Dent.* 72 : 644 – 650.
- Lutz F, Phillips R.W, 1983. *A Classification and Evaluation of Composite Resin Systems*. *J. Prosth. Dent.* 50 : 480 - 488.
- Mc. Cabe J.F, 1994. *Applied Dental Materials*, 7th ed, Oxford Scientific Publications, London, Edinburg, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna, pp : 5 - 7, 148 - 156.

- Mount GJ, Hume WR, 1998. Preservation and Restoration of Tooth Structure, Mosby Co, pp : 55 – 105, 196 – 197.
- Mohsen NM, Craig RG, Hanks CT, 1998. Cytotoxicity of Urethane Dimethacrylate Composites before and after Aging and Leaching. J. Biomed Mater Res. 39 (2) : 252 – 60.
- Ngatidjan, 1991. Metode Laboratorium Dalam Toksikologi. Yogyakarta, Pusat Antar Universitas. Universitas Gadjah Mada.
- Noort R.V, 1994. Introduction To Dental Material, Mosby Co, London-New York-Toronto. 89 - 105.
- Padmawinata K, 1991. Pengantar Kromatografi. Penerbit ITB, Bandung.
- Paul J, 1975. Cell and Tissue Culture, 5thed, Churchill Livingstone. Edinburg, London, New York, 57.
- Pearson GJ, Longman CM, 1989. Water Sorption and Solubility of Resin-Based Materials Following Inadequate Polymerization by a Visible-Light Curing System, J Oral Rehab, 16 : 57 – 61.
- Phillips, R.W, 1991. Skinner's Science of Dental Material, 8th ed, W.B. Saunder's Co. Philadelphia, pp. 20 - 27.
- Roukema P.A, 1993. Ludah. Yogyakarta, Gajah Mada University Press, 106.
- Sadamori S, Kotomi H, Hamada T, 1992. The Usage Period of Denture and Their Residual Monomer Contents. J. Prosthet. Dent. 68 : 374 - 376.
- Sastrohamidjojo H, 1991. Kromatografi. Penerbit Liberty Yogyakarta.
- Siswomihardjo W., 1999. Poliester EBP 2421 Sebagai Alternatif Bahan Basis Gigi Tiruan. Disertasi Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Soderholm KJ, Zigan M, Ragan M, Fischlschweiger, 1984. Hydrolytic Degradation of Dental Composites, J. Dent. Res. 63 : 1248 – 1254.
- Soderholm KJM, Mukherjee R, Longmate J, 1996. Filler Leachability of Composites Stored in Distilled Water or Artificial Saliva, J. Dent. Res, 75 : 1692 – 1699.
- Soeprapto M, 1999. Kultur Jaringan (Hewan), Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya, hlm 1 – 70.
- Stanford J.W, 1980. Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials. Int. Dent. J. 30 : 140-180.

- Stanford, G.D dan Brooks, S.C, 1985. The Loss of Residual Monomer from Acrylic Orthodontic Resin, *Dent. Mater.*, 1 : 135-138.
- Sturdevant, C.M, 1995. *The Art and Science of Operative Dentistry*, 3rd ed. Mosby Company, St. Louis, Baltimore, Berlin, Boston Carlsbad, Chicago, London, Madrid, naples, New York, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto, pp : 253 - 576.
- Taira M dkk, 1988. Analysis of Photo Initiators in Visible-Light Cured Dental Composite Resins. *J. Dent. Res.* 67 : 24 - 28.
- Telli C, Serper A, Dogan AL, Guc D, 1999. Evaluation of The Cytotoxicity of Calcium Phosphate Root Canal Sealers by MTT Assay, *J Endodon*, 25 : 811 – 813.
- Tang A, Yunliu, Bjorkman L, Ekstrand J, 1999. In vitro Cytotoxicity of Orthodontic Bonding Resins on Human Oral Fibroblasts. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 116, pp. 132-137.
- Wataha J.C, Rueggeberg F.A, Lapp C.A, Lewis J.B, 1999. In vitro Cytotoxicity of Resin Containing Restorative Materials After Aging in Artificial Saliva, *Clinic Oral Invest.* 3 : 144 - 149.
- Williams D, 1990. *Concise Encyclopedia of Medical and Dental Materials*. Pergamon Press, Oxford, New York, Beijing, Frankfurt, Sao Paulo, Sidney, Tokyo, Toronto. 69, 70, 119.
- Williams D.F, Cuningham J, 1979. *Material in Clinical Dentistry*. Oxford University Press. New York, Toronto, pp. 76 - 86.
- Yuliati A, 1995. Pengaruh Jarak dan Lama Penyinaran Lampu Penerang Dental Unit Terhadap Sifat Fisik, Mekanik dan Kimia Resin Komposit Sinar Tampak. Thesis Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.