

**PENGARUH LAMA PENYINARAN BAHAN BONDING DENTIN
TIPE SELF ETCH TERHADAP TOKSISITAS KULTUR SEL
FIBROBLAS BABY HAMSTER KIDNEY -21 (BHK-21)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**



Asal :	Hadiah Pembelian	Klass 617.601. UZA. P
Oleh :	Terima Tgl : 14 SEP 2006	
Pengkatalog :		

**Ita Masyita Uzair
NIM : 001610101004**

6161 - PERAWATAN
DAN KEMERSIHAN

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2004**

PENGARUH LAMA PENYINARAN BAHAN BONDING
DENTIN TIPE *SELF ETCH* TERHADAP TOKSISITAS
KULTUR SEL FIBROBLAS *BABY HAMSTER KIDNEY-21*
(BHK-21)

Karya Ilmiah Tertulis
(SKRIPSI)

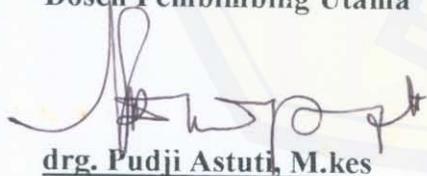
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelara Sarjana Kedokteran Gigi pada
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Oleh:

ITA MASYITA UZAIR

NIM : 001610101004

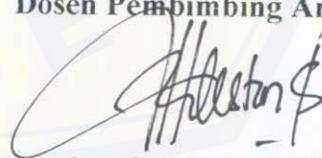
Dosen Pembimbing Utama



drg. Pudji Astuti, M.kes

NIP. 132 148 482

Dosen Pembimbing Anggota



drg. Sri Lestari, M.kes

NIP. 132 148 476

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2004

Diterima oleh:

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan Pada:

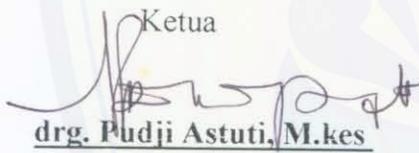
Hari : Jumat

Tanggal : 29 Oktober 2004

Pukul : 08.30 WIB

Tempat : Ruang Ujian Skripsi RSGM Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Tim Penguji:

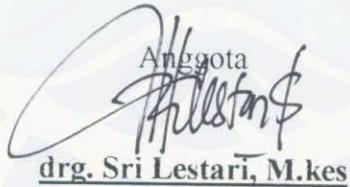
Ketua

drg. Pudji Astuti, M.kes

NIP.132 148 482

Sekretaris

drg. Izzata Barid, M.kes

NIP. 132 162 520

Anggota

drg. Sri Lestari, M.kes

NIP.132 148 476

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember




drg. Zahreni Hamzah, MS

NIP.131 558 576

MOTTO:

"DAN ALLAH MENGELUARKAN KAMU DARI PERUT IBUMU DALAM KEADAAN TIDAK MENGETAHUI SESUATUPUN DAN DIA MEMBERI KAMU PENDENGARAN, PENGLIHATAN DAN HATI AGAR KAMU BERSYUKUR"

(Q.S. AN-NAHL:78)

"APA SAJA NIKMAT YANG KAMU PEROLEH ADALAH DARI ALLAH, DAN APA SAJA BENCANA YANG MENIMPAMU, MAKA DARI (KESALAHANMU) SENDIRI. KAMI MENGUTUSMU MENJADI RASUL KEPADA SEGENAP MANUSIA. DAN CUKUPLAH ALLAH MENJADI SAKSI.

(Q.S. AN NISAA':79)

"SESUNGGUHNYA DIBALIK KESULITAN ITU ADA KEMUDAHAN, MAKA BILA KAMU TELAH SELESAI (DARI SUATU URUSAN) KERJAKANLAH DENGAN SUNGGUH-SUNGGUH URUSAN YANG LAIN. DAN HANYA KEPADA TUHANMULAH HENDAKNYA KAMU BERHARAP"

(Q.S. ALAM NASYRAH 6-8)

"A MAN WHO HAD SPIRIT IN THEIR'S LIFE'S,are A MAN WHO CAN SURVIVE IN MANY KIND OF PROBLEMS AND CONDITION"

(DIEVATA-OCT 13TH)

"Be yourself or someone like you"

(MB-20)

PERSEMBAHAN:

Karya Ilmiah Tertulis ini Aku Persembahkan Teruntuk:

- ♥ *Allah SWT yang telah memberikan aku nikmat yang tiada terkira dan telah mengeluarkanku dari permasalahanku satu demi satu yang pernah kualami*
- ♥ *Nabi-ku Muhammad SAW, menjalankan sunnahmu semakin dekatkanmu pada Allah SWT*
- ♥ *Ibunda Siti Hatidjah, Spd untuk semua cinta dan kasih sayang, semangat hidup, dukungan, nasehat serta doa restu yang selalu ibunda beri pada ananda dengan sepenuh hati. Semangat hidupmu ibu, akan selalu menjadi teladan bagiku. Semoga Allah mencintaimu seperti ibu mencintaimu.*
- ♥ *Ayahanda Mohammad Uzairi Zaini, SE atas doa restu, dukungan, nasehat yang selama ini ayah berikan untukku,*
- ♥ *Adik-adikku Fetty Fatimah Uzair dan Rozimanda Amirullah Uzair yang selalu memberiku semangat dan kasih sayang,*
- ♥ *Yang terkasih pendamping hidupku kelak, Sholikin untuk cinta, perhatian, kesabaran dan kasih sayangmu telah memberi arti dalam hidupku*
- ♥ *Keluarga besar R.P Mohammad Mansyur dan Muhammad Zaini Yahya tercinta,*
 - ♥ *Agama, Guru, Bangsa dan Almamater tercinta*
 - ♥ *Saudara dan teman-teman seperjuangan*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrohim,

Assalamualaikum Wr.Wb.

Syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah tertulis (skripsi) dengan judul “PENGARUH LAMA PENYINARAN BAHAN BONDING DENTIN TIPE *SELF ETCH* TERHADAP TOKSISITAS KULTUR SEL *BABY HAMSTER KIDNEY-21*(BHK-21)”. Karya ilmiah tertulis ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah tertulis ini masih jauh dari sempurna, baik dari segi materi maupun teknis penulisannya. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun.

Dalam penyusunan karya ilmiah tertulis ini, penulis banyak mendapatkan masukan dan bantuan yang sangat berharga dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menghaturkan rasa terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. drg. Pudji Astuti, M.kes selaku dosen pembimbing utama (DPU) dan drg. Sri Lestari, M.kes selaku dosen pembimbing anggota (DPA), yang telah berkenan meluangkan waktu untuk memberikan masukan berupa ilmu baru, tuntunan materi dan pengetahuan, bimbingan serta koreksi dalam penulisan karya ilmiah tertulis ini.
2. drg. Zahreni Hamzah, MS selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan drg. Rahardyan Parnaadji, M.kes selaku pembantu dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. Kepala perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah membantu dalam penyediaan literatur untuk penulisan karya ilmiah tertulis ini.

4. Kepala perpustakaan Fakultas Kedokteran Umum dan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan izin bagi penulis guna mendapatkan literatur untuk penulisan karya ilmiah tertulis ini.
5. Kepala Laboratorium Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya yang telah memberikan izin kepada penulis untuk dapat melaksanakan penelitian pada laboratorium PUSVETMA Surabaya
6. drh. Nurul, selaku kepala laboratorium bagian rabies PUSVETMA Surabaya, yang telah menyediakan tempat bagi penulis untuk melaksanakan penelitian guna penulisan karya ilmiah tertulis ini.
7. drh. Panca dan drh. Susilo serta seluruh staf pada laboratorium rabies PUSVETMA Surabaya, yang telah mengajarkan, memberikan ilmu baru serta membantu penulis selama melakukan penelitian.
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan masukan serta tuntunan materi dan pengetahuan, beserta seluruh staf karyawan.
9. Yang terhormat **Ayahanda Mohammad Uzairi Zaini,SE** dan **Ibunda Siti Hatidjah,Spd** beserta keluarga yang telah memberikan dorongan baik material maupun spiritual
10. Adik-adikku **Fetty** dan **Manda**, atas dukungan kalian.
11. Sahabat setiaku, kasih dan juga sebagai kakak bagiku, **Sholikin** yang selalu memberikan dorongan dan semangat dalam penulisan karya ilmiah tertulis ini.
12. Sahabat-sahabat terdekatku, **Vivin Yulianita, Latifah** dan **Siti Safitri Mulita** terimakasih telah menjadi sahabat setia yang selalu memberikan semangat dan motivasi.
13. Teman-teman satu penelitian **Vivin, Even** dan **Nicken** atas dukungan dan semangat kalian
14. Teman, adik dan juga sahabat bagiku, **Listyawati** di kosan DATA I/3a
15. Mas-mas di Pojok Rental, terimakasih atas bantuan yang telah diberikan.
16. Mas Nanang 'Porkas', terimakasih atas analisa datanya.
17. Mas Agus '99 atas ilmu tentang statistik yang telah diberikan.

18. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang turut memberikan bantuan, hiburan, saran dan pendapat.

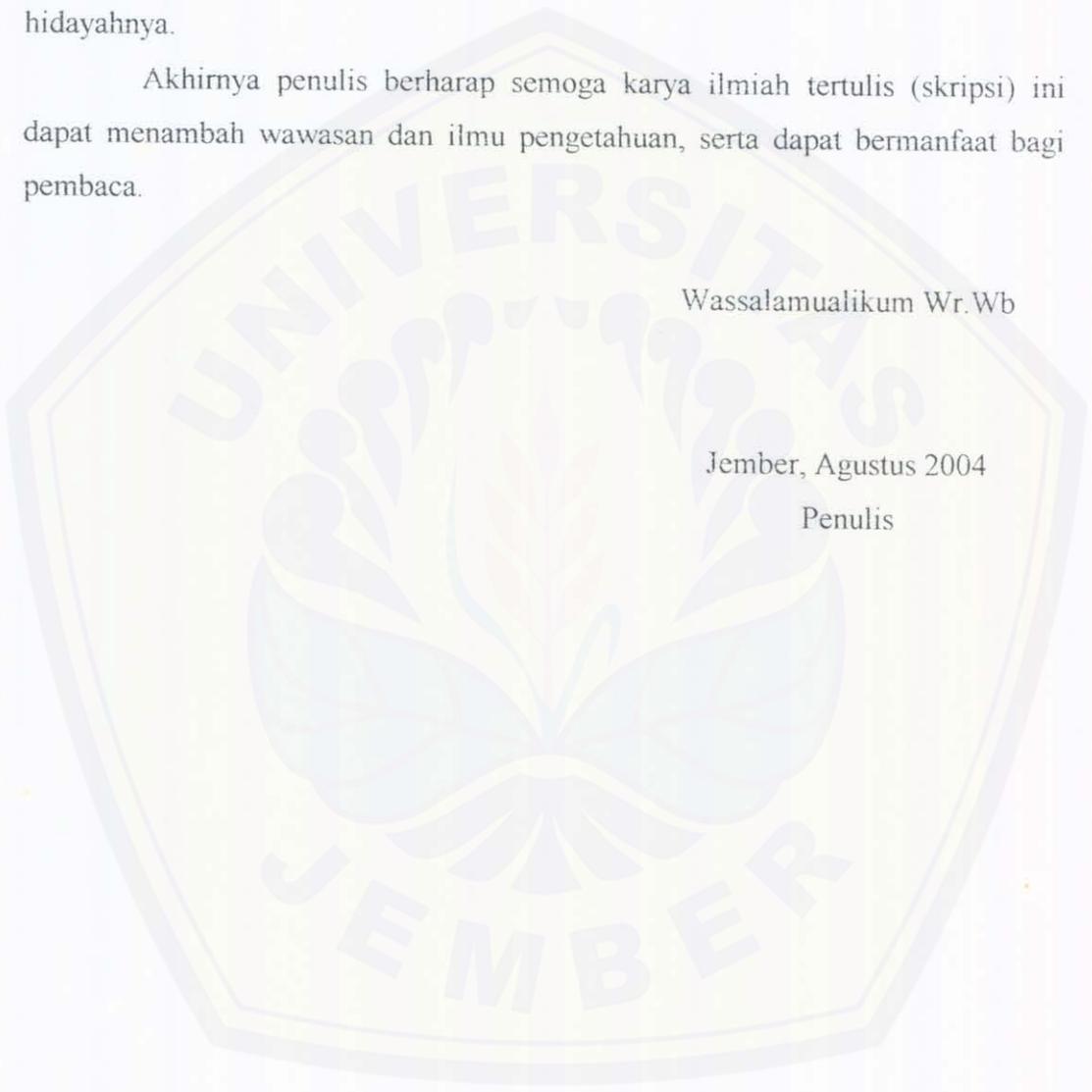
Untuk semua yang telah memberikan sesuatu yang tidak ternilai harganya diatas, penulis berharap Allah SWT akan selalu memberikan rahmat dan hidayahnya.

Akhirnya penulis berharap semoga karya ilmiah tertulis (skripsi) ini dapat menambah wawasan dan ilmu pengetahuan, serta dapat bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamualikum Wr.Wb

Jember, Agustus 2004

Penulis

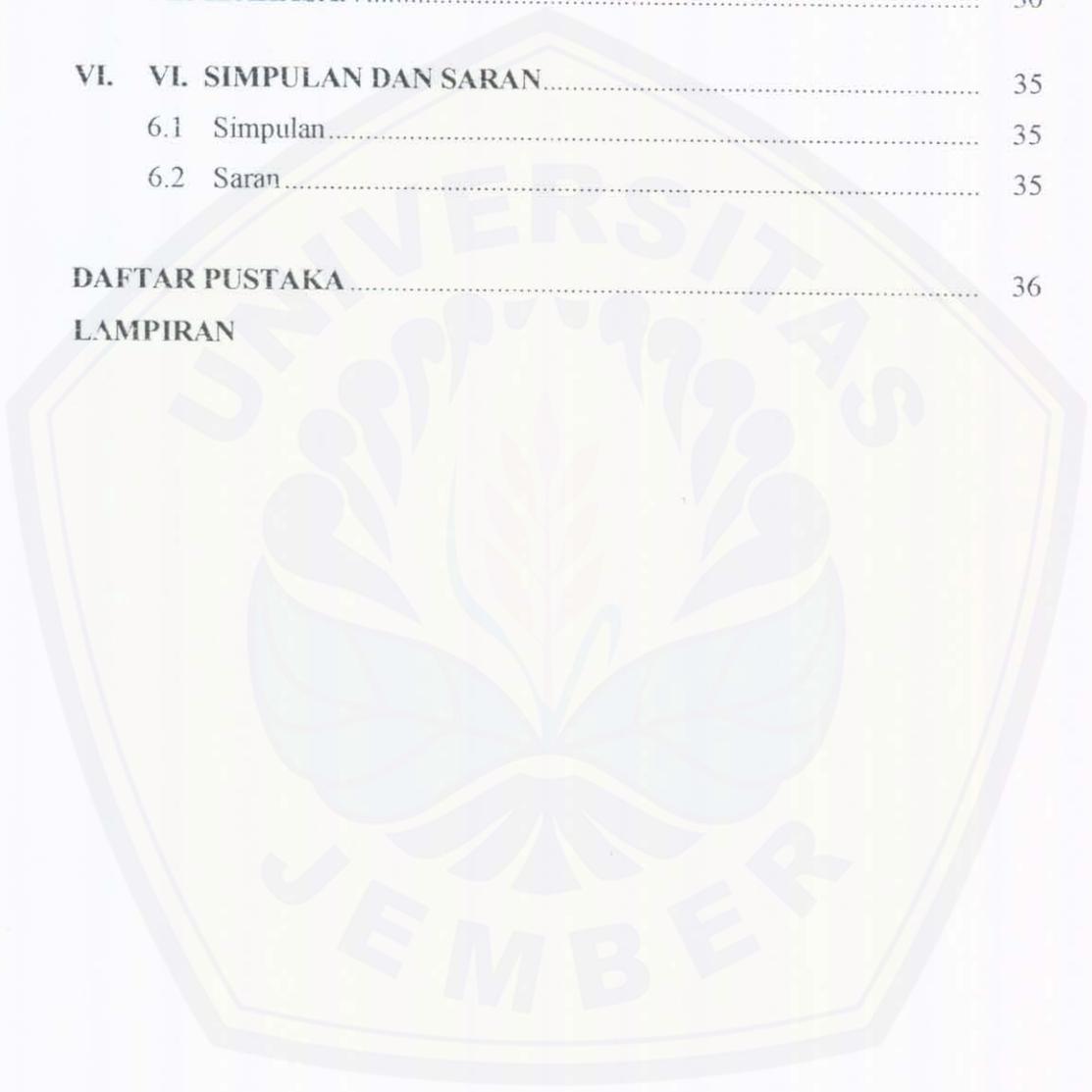


DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR GRAFIK.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
RINGKASAN	xvi
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Bahan Bonding.....	5
2.1.2 Bahan Etsa Bonding.....	5
2.1.3 Bahan Bonding Dentin.....	6
2.1.4 Kekuatan Bahan Bonding ke Email.....	7
2.1.5 Potensial Toksik Bahan Bonding.....	8
2.2 Bahan Adhesif <i>Self Etch</i>	8
2.2.1 Pendekatan <i>Self Etch</i>	8
2.3 Inkompatibilitas Bahan Adhesif <i>Self Etch</i> dengan Kuring.....	10
2.4 Pengaruh Lama Penyinaran Terhadap Monomer Sisa dan Sitotoksitasnya	10

2.5	Biokompatibilitas.....	11
2.6	Kultur Sel.....	12
III.	METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1	Jenis Penelitian	16
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.3	Definisi Operasional	16
3.3.1	Bahan Bonding Resin Komposit Sinar Tampak tipe <i>self etch</i>	16
3.3.2	Toksisitas kultur sel <i>Baby Hamster Kidney-21</i> (BHK-21)	16
3.4	Identifikasi Variabel Penelitian.....	16
3.4.1	Variabel Bebas	16
3.4.2	Variabel Tergantung.....	16
3.4.3	Variabel Terkendali.....	16
3.5	Alat dan Bahan	17
3.5.1	Alat.....	17
3.5.2	Bahan	18
3.6	Kriteria Sampel.....	18
3.7	Jumlah Sampel.....	18
3.8	Cara Kerja.....	19
3.8.1	Penentuan Jumlah Bahan Bonding Untuk Penelitian.....	19
3.8.2	Pembuatan sampel.....	19
3.8.3	Penelitian Untuk Uji Toksisitas Terhadap Kultur Sel.....	20
3.9	Pengamatan.....	22
3.10	Analisa Data.....	23
3.11	Rancangan Data Penelitian	23

IV. HASIL DAN ANALISA DATA	26
4.1 Hasil Penelitian.....	26
4.2 Analisis Hasil Penelitian	28
V. PEMBAHASAN	30
VI. VI. SIMPULAN DAN SARAN	35
6.1 Simpulan.....	35
6.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Rerata sel BHK-21 yang hidup serta toksisitasnya setelah pemberian bahan bonding dengan penyinaran 10 detik, 60 detik, kontrol sel dan kontrol perekat (%).....	26
Tabel 2.	Hasil uji homogenitas kelompok kontrol dan perlakuan.....	28
Tabel 3.	Hasil uji ANAVA kelompok kontrol dan perlakuan.....	28
Tabel 4.	Hasil uji Tukey HSD pada kelompok kontrol dan perlakuan.....	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Gambar hemositometer dan diagram penghitungannya	22
Gambar 2.	Alur penentuan volume bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe <i>self etch</i> untuk penelitian	24
Gambar 3.	Alur penelitian untuk uji toksisitas	25
Gambar 4.	Bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe <i>Self etch</i> dan <i>light curing units</i>	39
Gambar 5.	Sel BHK-21 dalam botol kultur.....	40
Gambar 6.	Proses pembuatan sampel dalam <i>laminar flow cabinet</i>	40
Gambar 7.	Media penumbuh sel.....	41
Gambar 8.	Sel BHK-21 beserta bahan bonding dalam <i>petri disposable</i> steril yang siap untuk diinkubasi 37 ⁰ C 2 x 24 jam.....	42
Gambar 9.	Sel BHK-21 setelah ditambahkan tripan biru dan siap untuk dihitung dalam hemositometer dengan mikroskop elektrik.....	42

DAFTAR GRAFIK

- Grafik 1.** Rerata sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe self etch (%)..... 27
- Grafik 2.** Rerata toksisitas sel BHK-21 setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* (%)..... 27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Rerata persentase (%) sel BHK-21 yang hidup dan toksisitasnya setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe <i>self etch</i> dengan penyinaran 10 detik dan 60 detik serta kelompok kontrol sel dan kontrol perekat	38
Lampiran 2.	Gambar Penelitian.....	39
Lampiran 3.	Uji Kolmogorov-Smirnov	42
Lampiran 4.	Uji Kehomogenan Ragam.....	43
Lampiran 5.	Uji Oneway Anova dan Tukey HSD.....	44

Ringkasan

Ita Masyita Uzair, NIM 001610101004, Judul : Pengaruh Lama Penyinaran Bahan Bonding Dentin Tipe *Self Etch* Terhadap Toksisitas Kultur Sel *Baby Hamster Kidney-21*(BHK-21) dengan Pembimbing Utama drg. Pudji Astuti,M.kes dan Pembimbing Anggota drg Sri Lestari,M.kes.

Teknik untuk membantu perlekatan antara resin dan dentin adalah dengan teknik etsa dan bilas. Seiring dengan perkembangan di bidang adhesif kedokteran gigi tercipta bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*. Bahan ini memiliki kelebihan yaitu dalam aplikasi klinisnya tidak diperlukan fase etsa dan bilas. Kekurangan bahan ini adalah adanya peningkatan konsentrasi monomer asam dan bahan restoratif (misal UDMA, TEGMA, BIS-GMA) serta bahan primer secara bersama-sama diaplikasikan tanpa membilas jaringan dapat bersifat toksik. Faktor lain yang mempengaruhi adalah adanya monomer sisa, dimana hal ini tergantung dari lama penyinaran yang dilakukan ketika aplikasi klinis. Lama penyinaran efektif adalah 20-60 detik, sedangkan sesuai aturan pabrik lama penyinaran yang digunakan adalah 10 detik. Komponen penyusun gingiva dan ligamen periodontal adalah jaringan fibroblas dimana jaringan ini akan langsung kontak dengan bahan bonding tersebut setelah diaplikasikan. Sel *Baby Hamster Kidney-21*(BHK-21) adalah kultur jaringan fibroblas ginjal hamster yang banyak digunakan untuk uji toksisitas bahan kedokteran gigi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dan untuk mengetahui seberapa besar toksisitasnya terhadap sel BHK-21. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi kepada klinisi tentang efek toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*, agar berhati-hati dalam pemakaiannya

Penelitian eksperimental laboratoris ini dilakukan di Laboratorium Pusat Veterinaria Farma Surabaya. Sampel yang digunakan adalah sebanyak 8 sampel untuk tiap perlakuan, dengan teknik pewarnaan tripan biru. Sel yang hidup ditandai dengan warna terang dan sel yang mati ditandai dengan warna biru.

Data penelitian diperoleh dengan membagi sel yang hidup dengan jumlah total sel hidup dan sel mati dikalikan 100%, sehingga diperoleh persentase sel hidup. Sehingga toksisitas dapat dihitung dengan cara melihat selisih persentase antara sel hidup dengan sel mati yaitu $100\% - \% \text{sel hidup} = \% \text{sel mati}$ (toksisitas). Selanjutnya data diuji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan untuk membedakan antara keempat kelompok tersebut dilakukan uji Oneway Anava.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* bersifat toksik terhadap sel BHK-21 pada penyinaran 10 detik dan tidak bersifat toksik pada penyinaran 60 detik.



I. PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penambahan retensi dari sistem resin adalah dengan teknik etsa. Teknik ini membutuhkan fase etsa dan bilas. Bahan etsa diaplikasikan pada email menghasilkan perbaikan antara permukaan email dan resin. Asam meninggalkan permukaan yang secara mikroskopis tidak teratur. Setelah bahan bonding diaplikasikan, maka akan terbentuk resin tag. Resin tag akan menghasilkan suatu perbaikan ikatan resin pada gigi. Asam fosfor diaplikasikan dan dibiarkan tanpa diganggu kontakannya dengan email selama 15-20 detik, kemudian dibersihkan dengan air selama minimal 30 detik, dan dikeringkan selama 15 detik. Konsentrasi yang tepat adalah 35-50%, dengan email yang teretsa akan terdekalifikasi yaitu berwarna putih (Baum, 1997:277-281).

Bahan bonding terdiri dari bahan matriks resin BIS-GMA yang encer tanpa bahan pengisi, yang diaktifkan secara kimia atau resin polimerisasi sinar. Setelah pengetsaan asam pada email, bahan bonding diaplikasikan. Resin dengan viskositas yang rendah akan mengalir segera ke daerah yang porus yang dihasilkan oleh etsa asam dan menjamin pembentukan resin tag yang maksimal. Keuntungan utama dari bahan semacam ini adalah dapat menjamin bahwa resin membasahi gigi dengan baik dan terbentuk resin tag yang maksimal (Baum, 1997:294-295).

Prosedur etsa yang ada selama ini memiliki aplikasi yang rumit. Aplikasi praktis dari adhesif dentin ini baru berkembang pada dekade terakhir. Saat ini berkembang suatu bahan bonding dentin generasi keenam, yang merupakan bahan adhesif *self etch*. Bahan adhesif *self etch* dianjurkan pada aplikasi klinis apabila pemakaian dengan teknik etsa dan bilas dianggap kurang berhasil. Teknik ini tidak membutuhkan fase etsa dan bilas yang lama, sehingga dapat mengurangi waktu aplikasi klinik, sensitivitas klinis dan resiko terjadinya kesalahan selama aplikasi dan manipulasi (B. Van Merbeek dkk, 2003:217).

Bahan *adhesif self etch* dihasilkan dengan meningkatkan konsentrasi monomer-monomer resin asam. Bahan tambahan yang penting untuk mengionisasi monomer-monomer tersebut adalah air. Semua bahan *adhesif self-etch* bersifat asam dan akan menghasilkan etsa asam, priming dan bonding tanpa perlu melakukan prosedur pra etsa dengan asam fosfor. Fungsi bahan primer asam adalah mengetsa, mereaksi dan mengikat monomer-monomer resin dengan matriks kolagen yang dibonding setelah didemineralisasi. Fungsi yang lain adalah sebagai *cross linkers* untuk menggabungkan dan mempolimerisasi bahan primer asam yang bersifat hidrolik tersebut dengan resin luting yang bersifat hidrofobik dan juga dengan bahan restorasi email dan dentin tanpa perlu membilas jaringan, sehingga asam akan di buffer oleh ion kalsium dari gigi (Wei, 2003:1).

Selain itu, yang sangat berpengaruh adalah monomer-monomer sisa yang tidak terpolimerisasi saat penyinaran: yang terdapat pada bahan bonding tipe *self etch* ini dapat bersifat toksik. Hal ini sangat dipengaruhi oleh lama penyinaran. *Light curing unit* akan menghasilkan polimerisasi pada bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*. Semua komponen yang terkandung akan berpolimerisasi (Wei, 2003:2). Dari hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan, bahwa dengan penyinaran 60 detik, bahan bonding akan mengeras (*setting*). Waktu bervariasi dan paling efektif antara 20 sampai 60 detik dengan ketebalan 2 mm (Craig, 2002:243), sedangkan waktu yang direkomendasikan pabrik adalah 10 detik. Proses polimerisasi yang tidak sempurna akan menyebabkan semakin tingginya konsentrasi monomer sisa yang tidak terpolimerisasi (Hensten dalam Nirwana, 2001:119).

Hanks dalam Effendy (1993:6) yang menyatakan bahwa monomer sisa yang dihasilkan oleh reaksi tidak sempurna pada waktu polimerisasi, kemungkinan besar bersifat toksik. Monomer-monomer sisa yang ada akibat dari proses polimerisasi yang tidak sempurna dapat menyebabkan toksik (Wei, 2003:2).

Setiap bahan dan alat yang digunakan dalam tubuh atau secara *in vivo* harus bersifat biokompatibel yang berarti setiap bahan yang digunakan tersebut harus dapat diterima secara biologis oleh jaringan tubuh. Salah satu uji

biokompatibilitas adalah uji toksisitas melalui teknik respon dari kultur sel. (Rosenbluth *dalam* Effendy, 1993:140).

Uji sitotoksitas dilakukan untuk mengetahui efek suatu bahan secara langsung pada jaringan dalam kultur sel. Kultur sel yang digunakan adalah *cell lines*. Keuntungan dari pemakaian kultur ini adalah subkultur (pasase) dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, dimana memiliki kecepatan pertumbuhan sel yang cukup tinggi. Integritas sel tetap terjaga dan mampu bermultiplikasi dalam suspensi (Lestari, 2003:139).

Bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dalam aplikasi klinisnya akan langsung kontak dengan jaringan sekitar gigi baik pulpa atau gingival. Bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* ini tidak memerlukan prosedur etsa dan bilas, sehingga asam yang diikutkan dalam satu botol dan turut diaplikasikan akan kontak langsung dengan jaringan sekitar pulpa dan gingival. Sel fibroblas merupakan sel terpenting dan merupakan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal dan gingival (Lestari,2003:141)

Freshney *dalam* Sulistiyani (2001:221) mengatakan kultur sel fibroblas (*cell lines*) yang berasal dari *Baby Hamster Kidney (BHK-21)* merupakan bahan kultur yang baik, karena berasal dari sel-sel embrionik atau sel-sel jaringan muda. Menurut Lestari (2003:139), sel BHK-21 berasal dari fibroblas ginjal hamster banyak digunakan dalam uji toksisitas bahan serta obat-obatan di bidang kedokteran gigi.

Penggunaan bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* semakin hari semakin meningkat. Kandungan asam tinggi yang tidak dibilas serta adanya monomer-monomer sisa akibat proses polimerisasi yang tidak sempurna, kemungkinan dapat menimbulkan toksik. Sehingga perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu :

1. Apakah bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* bersifat toksik terhadap kultur sel *Baby Hamster Kidney-21*?
2. Seberapa besar toksisitas yang ditimbulkan oleh bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* terhadap kultur sel *Baby Hamster Kidney-21*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui apakah bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dapat menyebabkan toksisitas terhadap sel *Baby Hamster Kidney-21*.
2. Untuk mengetahui seberapa besar toksisitas yang ditimbulkan oleh bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* terhadap sel *Baby Hamster Kidney-21*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah

1. Memberikan informasi tentang efek toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*, kepada klinisi agar berhati-hati dalam pemakaiannya.
2. Perlu penelitian lebih lanjut tentang komponen apa yang menyebabkan sitoksisitas dari bahan bonding sinar tampak tipe *self etch*.

II. TINJAUAN PUSTAKA



2.1 Bahan Bonding

Bahan bonding adalah resin bonding (bonding resin) *unfilled* resin yang digunakan untuk membantu adhesi mekanis suatu semen. Bonding sendiri berarti terikat bersama-sama misalnya porselen pada emas atau logam lain, atau bahan tempat tertentu pada email yang utuh (FJ Harty, 1995:41).

Menurut Baum (1997:294-296) pengertian adhesi adalah kekuatan yang menyebabkan dua substansi untuk melekat ketika mereka berkontak satu dengan lainnya, sehingga dapat diambil kesimpulan tentang pengertian bonding yaitu perlekatan kuat antara dua substansi secara mekanis, secara penetrasi bahan adhesif kedalam bentuk-bentuk ketidakaturan mikroskopis atau submikroskopis seperti celah, pori, pada permukaan substrat.

2.1.2 Bahan Etsa dan Bonding

Bahan etsa yang diaplikasikan pada email menghasilkan perbaikan ikatan antara permukaan email-resin. Salah satu alasannya adalah bahwa asam meninggalkan permukaan email yang bersih, yang memungkinkan resin membasahi permukaan dengan lebih baik. Asam fosfor adalah bahan etsa yang digunakan. Konsentrasi 35% hingga 50% adalah tepat dan banyak pabrik yang memasok asam ini dalam bentuk larutan atau gel bersama sistem resin. Email yang teretsa harus tampak terdekalsifikasi yaitu berwarna putih. Jika belum terlihat putih, diduga bahwa etsa kurang adekuat, dan asam tersebut harus diaplikasikan kembali agar menghasilkan permukaan email yang cukup untuk menerima dan mendukung perlekatan resin.

Banyak pabrik memperkenalkan apa yang disebut agen bonding email untuk digunakan pada etsa asam. Bahan bonding biasanya terdiri atas bahan matriks resin BIS-GMA yang encer tanpa pasi atau dengan hanya sedikit bahan pengisi (pasi). Bahan bonding dipasok dalam bentuk resin yang diaktifkan secara kimia atau resin polimerisasi sinar. Setelah pengetsaan asam pada email, bahan

bonding diaplikasikan. Berdasarkan teori, resin dengan viskositas yang rendah akan segera mengalir ke daerah yang porus, yang dihasilkan oleh etsa dan membentuk resin tag yang maksimal. Jadi, bahan bonding mencapai suatu perlekatan yang baik dengan gigi, resin komposit segera dimasukkan dan mengikat lapisan antara dari bahan bonding resin.

Keuntungan utama dari bahan ini adalah dapat menjamin bahwa resin membasahi gigi dengan baik dan terbentuk resin tag yang maksimal. Bahan bonding juga menguntungkan untuk resin pasi mikro, yang lebih kental. Bahan bonding adalah cairan sedikit kental yang dengan mudah diaplikasikan dengan kuas kecil ke dalam dinding kavitas dan tepi email. Bahan bonding harus membentuk lapisan tipis dan merata di daerah preparasi (Baum, 1997:279-282).

2.1.3 Bahan Bonding Dentin

Etsa asam dari email efektif dalam membentuk mekanisme bonding mekanis. Sekarang tindakan tersebut adalah suatu prosedur yang dilakukan tiap kita menambal dengan tambalan resin, sehingga tidak terjadi kebocoran mikro atau hilangnya retensi.

Generasi ketiga, terdapat dalam bentuk komersial selama beberapa tahun ini, bahan-bahan coupling yang mampu menghasilkan ikatan yang kuat yang hampir sama dengan kekuatan ikatan resin email yang dietsa. Formula kimianya memiliki variasi antara satu dengan lainnya, tapi langkah pertama yang dilakukan pada prosedur bonding adalah pengasaman dentin.

Bahan dentin bonding yang pertama digunakan adalah sistem NPG-GMA produk reaksi dari H-phenylglycine dan glycidyl methacrylate. Permukaan dentin yang diberi asam menjadi lemah dan meningkatnya adhesi melalui chelasi dengan ion kalsium. Larutan asam ferric oxalate digunakan untuk membersihkan serta perawatan, yang kemudian diikuti penempatan NPG-GMA.

Aldehid telah dipergunakan sebagai metode bonding ke kolagen yang potensial. Salah satu bahan, larutan dari glutaraldehid dan hidrosiefil metakrilat (HEMA) digunakan setelah pengulasan pendahuluan dengan EDTA (asam etilen diamin tetrasetik). Ada juga yang menggunakan asam maleik, sebagai bahan

demineralisasi yang digabungkan ke larutan HEMA. Kemudian diikuti dengan aplikasi monomer polimerisasi yang terdiri atas BIS-GMA dan HEMA. Bahan lain yang digunakan adalah 4-methoxyethitrimellitanhidrat, sebagai bahan coupling agent. Semua bahan-bahan yang disebutkan diatas menggunakan bermacam-macam bahan kimia dalam upaya mengikat secara adhesif ke komponen anorganik atau organik pada dentin. Bahan bonding bersifat layer bila kondisioner digunakan waktu tertentu, tubulus dentinalis akan terbuka dan dentin antar tubulus akan teretsa cukup besar. Hal ini akan mempermudah penetrasi monomer yang bisa dipolimerisasi (misal HEMA) ke dalam dentin bertekstur halus untuk mendapatkan bonding mekanis yang baik (Baum, 1997:294-296).

2.1.4 Kekuatan Bahan Bonding Ke Email

Wei (2003:1) mengatakan, sistem etsa total yang telah disederhanakan atau yang disebut juga *generasi kelima* bahan adhesif satu botol merupakan kombinasi resin bonding dan primer dalam satu formula dengan pelarut aseton atau etanol yang bekerja menginfiltrasi lapisan email dan dentin yang telah didemineralisasi oleh asam sehingga menghasilkan terbentuknya lapisan hibrid antara bahan restoratif dan jaringan gigi di bawahnya.

Penelitian laboratoris telah menunjukkan bahwa bahan *adhesif self-etch* mampu mencapai kekuatan bonding email dan dentin yang setaraf dengan agen-agen bonding generasi kelima. Secara umum hampir semua bahan adesif yang diuji tersebut mampu memberikan kekuatan bonding memuaskan terhadap email yang masih kuat. Namun demikian kekuatan bonding sejumlah bahan *adhesif self-etch* terhadap dentin ternyata berada dibawah level yang dapat diterima. Uji terhadap kemampuan bonding sejumlah bahan *adhesif self etch* terhadap email yang telah rusak dan menyimpulkan bahwa kemampuan bahan adhesif membonding email yang telah rusak semisal pada tepi kavitas yang tidak tersentuh bur, kemungkinan berhubungan dengan pH bahan adhesif tersebut (Tay, 2001:296).

2.1.5 Potensial Toksik Bahan Bonding

Potensial toksik dari bahan bonding dentin ditunjukkan pada tes in vitro. Ditemukan bahwa monomer hidrofil seperti HEMA atau TEDGMA adalah sitotoksik, tapi derajatnya lebih kecil pada monomer yang hidrofilik bisphenol A diglycidil di metakrilat atau urethane dimetakrilat. Interaksi dari monomer yang berbeda telah diperlihatkan, dengan potensial toksisitas yang bertambah pada potensial tunggal. Bahan bonding dentin sendiri juga terbukti menjadi toksik, meski ada indikasi bahwa bahan bonding satu langkah sitotoksitasnya lebih kecil daripada yang menggunakan beberapa langkah (Schmalz, 2002:188).

2.2 Bahan Adhesif *Self Etch*

Saat ini bahan dentin adhesif mempunyai dua pengertian yang berbeda dalam hubungannya dengan mikromekanikal retensi antara resin dan dentin. Metode pertama adalah menghilangkan smear layer keseluruhan dan didemineralisasi di bawah permukaan dentin melalui etsa asam dengan chelating agent atau asam mineral. Kemudian diikuti dengan membilas, aplikasi beberapa langkah dari primer adhesif yang sederhana, dimana diaplikasikan pada pengatur substrat untuk melengkapi bahan bonding.

Metode kedua adalah dengan menggunakan smear layer sebagai bonding substrat. Sebagai *self etching* primer, diaplikasikan ke smear layer, menutupi dentin untuk mempersingkat periode waktu aplikasi. Tanpa pembilasan lebih lanjut, lapisan dari resin adhesif diaplikasikan ke dentin. Pada sistem ini, tujuannya adalah menggabungkan smear layer dengan lapisan hibrid.

Penggunaan dari *self-etch*, self primer adhesif adalah digunakan pada dentin yang kering setelah pencampuran, dimana hal ini memerlukan satu kali aplikasi primer pengeringan dengan menggunakan semprotan udara yang dianggap lebih baik daripada dengan teknik membilas (Tay, 2002:372).

2.2.1 Pendekatan *Self Etch*

Selama ini pemakaian secara klinis yang kurang bersahabat dan menyebabkan sensitivitas yang tinggi, telah menjadi perhatian. Pendekatan yang paling dianjurkan adalah teknik *self etch*. Teknik ini tidak membutuhkan fase etsa

dan bilas yang lama, sehingga selain dapat mengurangi waktu aplikasi kilnis juga mengurangi sensitivitas klinis, dimana resiko kesalahan selama aplikasi dan manipulasi kecil (Van Meerbeek, 2003:217).

Menurut Wei (2003:1) salah satu keuntungan bahan *adhesif self etch* adalah tidak menghilangkan lapisan *smear* saat prosedur etsa, priming dan bonding, melainkan justru memodifikasi sehingga membentuk *smear plug* sehingga menurunkan aliran hidrofilik melalui tubulus dentinalis.

Bahan *adhesif self etch* dihasilkan dengan meningkatkan konsentrasi monomer-monomer resin asam. Air merupakan bahan tambahan yang cukup penting untuk mengionisasi monomer-monomer. Agar bahan adhesif dapat dengan optimal bekerja, maka sebelumnya harus dapat mengetsa lapisan *smear* hingga dentin dibawahnya, dan dengan itu maka di dalam dentin yang utuh terdapat pembentukan lapisan *smear* terhibridisasi dan lapisan hibrid (Pashley, 2001:431).

Adhesif *self etch* kuat mempunyai pH yang lebih rendah dari normal. Hasil keasaman yang tinggi lebih mempunyai efek demineralisasi yang dalam, enamelnya menghasilkan etsa asam yang menggunakan asam fosfat, dimana hal ini mengikuti pendekatan etsa dan bilas (Van Meerbeek, 2003:231-232)

Smear plugs yang tidak terbilas bersih maka dapat terjebak didalam resin membentuk *smear plugs*, terhibridisasi, dapat menutup tubulus dentinalis, sehingga penggunaannya akan menimbulkan sensitifitas post operatif minimal. Semua bahan adhesif *self-etch* bersifat asam dan akan menghasilkan etsa asam, priming dan bonding tanpa perlu prosedur pra etsa dengan asam fospor. Fungsi bahan primer asam adalah mengetsa, mereaksi dan mengikat monomer-monomer resin dengan matriks kolagen yang siap di bonding setelah didemineralisasi, juga sebagai *cross-linkers* untuk menggabungkan dan mempolimerisasi bahan primer asam yang bersifat hidrofilik tersebut sebagai resin luting yang bersifat hidrofobik serta bahan restoratif. Semua bahan tersebut, secara bersamaan diaplikasikan ke email dan dentin tanpa perlu membilas jaringan, sehingga asamnya akan dibuffer atau dinetralsir oleh ion-ion kalsium dari gigi. Hal ini adalah menghilangkan *technique sensitivity* akibat pembasahan atau pengeringan berlebihan pada dentin

yang teretsa asam. Lapisan *smear* dan *plugs* 86% memberi ketahanan total terhadap aliran cairan melewati dentin yang keras. Lapisan *smear* yang dimodifikasi oleh resin yang menginfiltrasi sehingga terbentuk lapisan *smear* terhibridisasi, maka secara bersamaan tubulus dentinalis tertutup *smear plugs* yang terinfiltrasi resin, sehingga sensitivitas yang ditimbulkan relatif kecil atau tidak ada sama sekali (Wei, 2003:2).

Konsekuensi mekanisme kekuatan dari adhesif *self etch* adalah yang pertama berdifusi kedalam, hampir sama dengan etsa dan bilas. Pada pH yang rendah *self etch* adhesif dengan bahan bonding rendah dari nilai yang kuat, terutama pada dentin. Kegagalan sebelum dilaksanakannya tes, dimana menggunakan tes pendekatan *mikrotensile bond strength* (Inoue dalam Van Meerbeek, 2003:232). Bahan yang paling lemah dari adhesif *self etch* ringan adalah potensial bonding kimia yang lebih kuat untuk hidroksiapatit, dimana bahan ini dapat membantu memperbaiki penampilan bonding ke enamel (Van Meerbeek, 2003:231).

2.3 Inkompatibilitas Bahan Adhesif Self Etch dengan Komposit Kuring Kimiawi

Hampir semua bahan adhesif bersifat tidak kompatibel dengan komposit *self cured* yang memanfaatkan komponen amin tersier aromatik sebagai katalis redoks, yang tidak dapat bonding dengan baik terhadap monomer-monomer resin dikarenakan reaksi asam basanya mengaktifasi kembali amin tersier tersebut. Ciri khas bahan adhesif *self etch* satu botol adalah tidak adanya lapisan resin bonding tambahan, yang merupakan tempat dimana monomer-monomer resin yang tidak terkuring berkontak langsung dengan komposit *self cured* (Wei, 2003:3)

2.4 Pengaruh Lama Penyinaran Terhadap Monomer Sisa dan Sitotoksitasnya

Polimerisasi yang dihasilkan oleh *light curing unit* terhadap bahan bonding sinar tampak tipe *self etch* tergantung pada lama penyinaran. Lama

penyinaran juga dibutuhkan untuk kedalaman *cure* pada permukaan dan kedalaman bahan (Craig, 2002:241)

Metode yang sangat berguna untuk mengurangi komponen monomer sisa adalah lama penyinaran (Kawaguchi, 1996:183). Adanya monomer sisa menunjukkan proses polimerisasi yang tidak sempurna. Monomer sisa merupakan salah satu metode yang dapat untuk mengevaluasi sifat kimia suatu bahan (Lestari, 2003:77)

Peningkatan lama penyinaran akan menurunkan monomer sisa. Hal ini karena dengan peningkatan lama penyinaran, berarti energi sinar untuk mengaktifasi proses polimerisasi akan meningkat. Energi yang ditimbulkan akan menentukan derajat polimerisasi (Sakaguchi *dalam* Lestari 2003:78). Energi sinar yang meningkat, akan meningkatkan jumlah photon yang akan menginisiasi pembentukan radikal bebas. Semakin meningkatnya radikal bebas maka derajat polimerisasi akan meningkat sehingga monomer sisa yang terbentuk akan menurun (Annisavice *dalam* Lestari, 2003:78).

Sitotoksisitas terjadi karena komponen utama yang tidak terpolimerisasi pada lapisan penghambat udara yang terlepas dari bahan (Craig, 2002:136-237). Polimerisasi yang tidak sempurna akan meningkatkan monomer sisa. Dengan berkurangnya monomer sisa bahan, dapat mengurangi terlepasnya komponen yang tidak terpolimerisasi tersebut ke dalam kultur, sehingga dapat menurunkan sitotoksisitas (Lestari, 2003:87)

2.5 Biokompatibilitas

Tiap bahan dan alat yang digunakan dalam tubuh harus memiliki sifat biokompatibel. Artinya bahwa bahan tersebut harus dapat diterima jaringan tubuh dan bahan tersebut tidak merusak lingkungan biologis. Biokompatibilitas adalah suatu keadaan harmonis, dimana tidak ada sifat toksik yang diukur berdasarkan toksisitas lokal, respon sistemik, alergi dan karsinogenitas, sehingga tujuan dari test tersebut adalah mengeliminasi komponen yang potensial dari bahan yang menyebabkan rusaknya jaringan rongga mulut (*Dorland's Medical Dictionary dalam* Lestari, 2003:24)

Test biokompatibilitas diklasifikasikan dalam tiga bagian (Annusavice dalam Indriana, 2000:5)

1. Uji pendahuluan (*primary test*).

Adalah uji toksisitas dari bahan yang diletakkan secara langsung pada kultur sel atau di atas membran yang menutupi kultur sel.

2. Uji sekunder (*secondary test*)

Adalah bahan yang dievaluasi berdasarkan potensi radang atau imunogenik. Uji yang termasuk di dalam test sekunder ini antara lain uji toksisitas sistemik, uji toksisitas inhalasi, uji iritasi kulit, uji hipersensitivitas serta respon implantasi.

3. Uji aplikasi klinis

Adalah bahan yang dievaluasi sesuai dengan pemakaian secara klinis.

Salah satu uji biokompatibilitas adalah uji toksisitas melalui teknik kultur sel, dimana memiliki keuntungan antara lain (Effendy, 1993:47):

- a. Hasil dapat dicapai dengan cepat
- b. Kultur sel sangat sensitif terhadap bahan toksik
- c. Dapat mengukur toksisitas secara kuantitatif
- d. Respon terhadap sel hidup dapat diamati langsung.

2.6 Kultur Sel

Bahan kedokteran gigi saat ini harus dapat diterima oleh rongga mulut. Bahan tersebut harus tidak toksik, tidak mengiritasi dan harus mempunyai sifat bioadaptabel. Menurut Effendy (1993:47), bahan kedokteran gigi saat ini melalui standarisasi persyaratan fisika dan kimia tanpa disertai dengan uji biologis maupun uji imunologi, dimana salah satu uji tersebut adalah dengan uji menggunakan teknik kultur sel, sehingga diharapkan dapat mengetahui toksisitas bahan terhadap jaringan sekitarnya.

Toksisitas adalah kemampuan racun atau sifat toksik yang dimiliki oleh suatu zat, unsur atau senyawa kimia (Heryando dalam Indriana, 2000:10). Toksikan dapat menyebabkan efek lokal di tempat kontak, selain itu dapat menyebabkan kerusakan apabila diserap oleh organisme tersebut. Sifat dan efek

zat kimia terhadap organisme tergantung dari kadarnya pada organ tersebut. Kadar ini tidak hanya bergantung pada dosis yang diberikan, tetapi juga pada beberapa faktor lain misal derajat absorpsi, distribusi, pengikatan dan ekskresi (Klaaseen *dalam* Indriana, 2000:10)

Berdasarkan sifat pertumbuhannya, metode kultur sel dibagi atas:

1. Kultur primer yaitu kultur sel atau jaringan berasal dari organisme asalnya yang diambil secara langsung.
2. Kultur sel diploid yaitu kultur sel yang menggunakan strain dari sel yang ada dengan melakukan pasase berulang-ulang dari kultur sel primer.
3. Kultur *cell lines* yaitu berasal dari dari kultur sel primer yang dapat disubkultur berulang-ulang. Sel BHK-21 yang berasal dari fibroblast ginjal hamster dan sel L-929 yang berasal dari fibroblast paru-paru tikus, adalah *cell lines* yang banyak digunakan.

Kultur sel primer lebih sensitif terhadap efek toksik bahan kimia jika dibandingkan dengan *cell lines*, selain juga umumnya kurang homogen dan cenderung cepat mati bila dikultur.

Cell lines mempunyai keuntungan yaitu pasase dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, kecepatan pertumbuhan sel yang tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi (Freshney, 1987:7-13).

Effendy (1993:47-48) mengatakan bahwa secara umum sel yang diambil untuk kultur sel hidup berasal dari sel fibroblas (*fibroblast like*) dan sel epitel (*epithelial like*), dimana penggunaan keduanya tergantung pada kebutuhan. Jaringan embrionik akan tumbuh lebih baik daripada jaringan yang diambil pada organ post natal, karena kultur sel yang berasal dari jaringan yang lebih muda akan tumbuh lebih baik daripada yang tua.

Jumlah jaringan ikat mempengaruhi tingkat pertumbuhan, makin banyak kandungan jaringan ikat maka pertumbuhan sel makin lambat. Ginjal sering digunakan sebagai kultur jaringan karena pada ginjal memiliki struktur jaringan ikat yang relatif sedikit dibandingkan dengan organ lainnya (Whitaker *dalam* Effendy, 1993:48).

Penelitian Tyas *dalam* Effendy (1993:48) untuk menguji toksisitas bahan, menggunakan kultur jaringan, dimana sebagai kultur jaringan fibroblast

menggunakan sel *Baby Hamster Kidney (BHK-21)* dengan menggunakan medium *BME (Basal Medium Eagle's)* dengan 10% *Faetal Calf Serum*.

Penelitian toksisitas yang lain adalah dilakukan oleh Meryn dan Jacobson dalam Effendy (1993:48). Mereka melakukan uji toksisitas terhadap bahan restoratif dengan menggunakan culture *BHK-21 (Clone-13)* yang ditumbuhkan pada *Medium Eagle's Minimum Essential*.

Pengamatan toksisitas dengan cara menghitung sel hidup dengan hemositometer melalui pengecatan pada suspensi sel panen kultur ditambahkan 0,4% *Trypan blue* dalam *physiological saline* untuk menghitung sel yang mati dan 0,1% *crystal violet* dalam 0,1 *citric acid* untuk menghitung semua sel (Bird dan Forrester 1981:45-46), dimana untuk menghitung % sel yang hidup dengan cara:

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

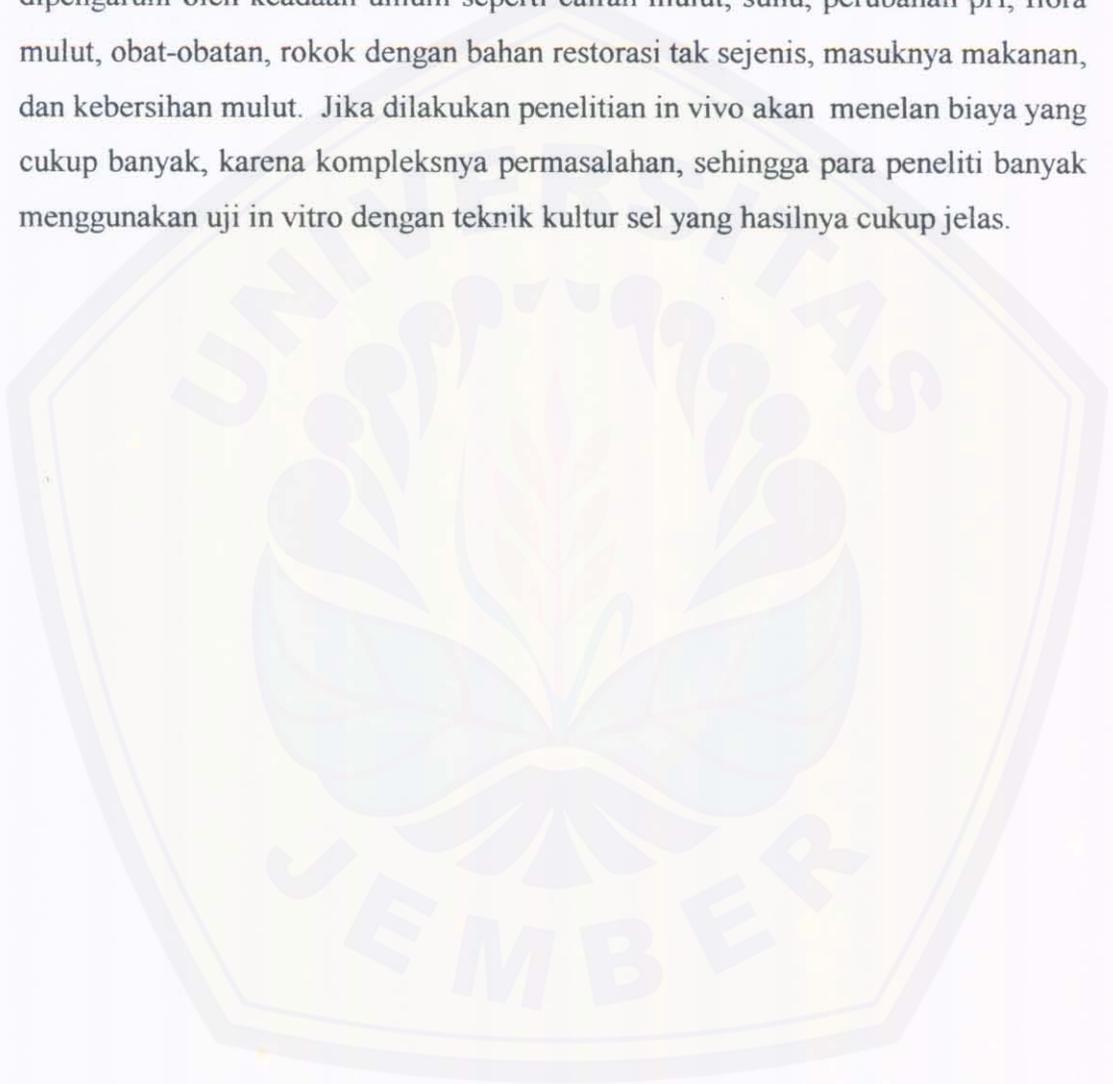
Cara lain adalah dengan menggunakan tingkat pertumbuhan relatif (*relative growth rate*), dengan mengukur daerah koloni sel yang diperoleh dengan membagi nilai maksimum, rata-rata dan minimum kondisi penelitian dengan nilai rata-rata dari kontrol selama penelitian. Skor sitotoksitas ditentukan oleh prosentase RGR, dan dikenal cara penilaian sebagai berikut:

Sitotoksis skor	0 = RGR 100%
	1 = RGR 75% - 99%
	2 = RGR 50% - 74%
	3 = RGR 26% - 49%
	4 = RGR 1% - 24%
	5 = RGR 0%

Skor diatas mewakili secara tidak langsung toksisitas dan iritasi yang diberikan bahan yang akan diteliti terhadap sel (Nakamura dalam Effendy, 1993:50).

Toksisitas bahan dapat diamati dari pertumbuhan sel disekitar bahan yang diuji dengan cara mengukur daerah inhibisi (*inhibition zone*). (Wenberg dalam Effendy, 1993:50).

Menurut Effendy (1993:50-51) keadaan rongga mulut banyak dipengaruhi oleh keadaan umum seperti cairan mulut, suhu, perubahan pH, flora mulut, obat-obatan, rokok dengan bahan restorasi tak sejenis, masuknya makanan, dan kebersihan mulut. Jika dilakukan penelitian *in vivo* akan menelan biaya yang cukup banyak, karena kompleksnya permasalahan, sehingga para peneliti banyak menggunakan uji *in vitro* dengan teknik kultur sel yang hasilnya cukup jelas.





3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2004 di Laboratorium Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

3.3 Definisi Operasional

3.3.1 Bahan Bonding Resin Komposit Sinar Tampak tipe *self etch*

Merupakan *unfilled* resin yang digunakan untuk membantu adhesi mekanis resin komposit sinar tampak tanpa fase etsa dan bilas, dan dihasilkan dengan meningkatkan monomer-monomer resin asam.

3.3.2 Toksisitas kultur sel *Baby Hamster Kidney-21* (BHK-21)

Adalah kemampuan suatu zat, unsur atau senyawa kimia yang menyebabkan kematian sejumlah sel BHK-21 yang ditunjukkan dengan kematian sejumlah sel.

3.4. Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*.

3.4.2 Variabel Tergantung

Toksisitas sel BHK-21.

3.4.3 Variabel Terkendali

- Sterilitas bahan yang diuji
- Jenis *cell lines*
- Jumlah Sel BHK-21 yang dipapar

- Konsentrasi bahan yang diuji
- Media untuk menumbuhkan sel
- Lama waktu kontak sel dengan bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*.
- Lama penyinaran bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

- Timbangan mikro-balance (Shimadzu- *Japan*)
- Glass plate
- *Light Curing Unit* (Lytx- *America*)
- *Contra high speed* (Panair- *Germany*)
- 1 set mata bur *contra high speed* (Dentsply-*Germany*)
- Kuas
- Botol kultur roux (Flow-*Switzerland*)
- Pipet (Precicolor- *Germany*)
- Laminar flow (Oliphant-*Germany*)
- Inkubator (Hirashawa-*Japan*)
- Mikroskop elektron (Olympus-*Japan*)
- Hemositometer (Assistant-*Germany*)
- Pinset (Medica)
- Botol ukur (Schoot- *Germany*)
- Disposable petridish (Nunclon delta-*Germany*)
- Counter untuk menghitung sel (Kenko)
- Pipet *Pasteur* (Brand-*Germany*)
- *Syringe* 10 ml dan 1 ml
- *Centrifuge* (MSE, USA)

3.5.2 Bahan

- Bahan Bonding Resin Komposit Sinar Tampak Tipe *Self Etch* (Xeno III-Germany)
- Gigi molar M1/M2 sebanyak 3 gigi, dengan kondisi mahkota dan akar masih bagus. (untuk dipreparasi, sehingga dapat ditentukan jumlah bahan bonding yang dibutuhkan untuk penelitian)
- *Media Eagle's Minimum Essential Medium (Eagle's MEM)* (Flow-Switzerland)
- Pencuci serum *Phosphate Buffer Saline (PBS)* (Flow-Switzerland)
- Larutan *Trypsin Versene* (Flow-Switzerland)
- *Bovine serum* (Flow-Switzerland)
- Kultur Sel digunakan *cell lines Baby Hamster Kidney (BHK-21)* (Pusvetma-Surabaya)
- Celluloid strip
- *Sticky Wax*
- Larutan tripan biru (Flow-Switzerland)

3.6 Kriteria Sampel

- Jenis bahan bonding
- Bahan bonding tipe *self etch* yang dikuring 10 detik dan 60 detik (bahan tidak porus dan permukaan bahan halus)
- Volume bahan bonding tipe *self etch* yang akan diuji

3.7 Jumlah Sampel

Untuk mengetahui besar sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini ditentukan melalui estimasi besar sampel menggunakan rumus (Torrie dan Steel, 1995:146)

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

Keterangan:

$$Z = 1,65$$

$$\alpha = 0,05 \text{ sehingga } Z_{\alpha/2} = Z_{0,025} = 1,96$$

$$\beta = 0,20 \text{ sehingga } Z_{\beta} = 0,85$$

$$\delta/\sigma = 1, \text{ sehingga } \sigma^2_D/\delta^2 = 1$$

Berdasarkan keterangan dari rumus diatas maka dapat diambil sampel sebesar $n = (1,96 + 0,85)^2 = 7,9$ dan dibulatkan menjadi 8. Jadi sampel minimal untuk tiap kelompok perlakuan adalah 8.

3.8 Cara Kerja

3.8.1 Penentuan Jumlah Bahan Bonding Untuk Penelitian

- Jumlah bahan bonding yang dibutuhkan untuk tiap sampel adalah sebesar 0,0117 mg. Hasil ini didapatkan setelah dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan gigi molar (M1/M2) (*fresh extracted*) manusia dipreparasi berbentuk bulat (kelas 1) dengan \varnothing 5mm dan ketebalan 2mm, menggunakan contra *high speed* dengan mata bur *fissure* (Craig, 2002:243) dengan cara sebagai berikut:
- Bahan bonding diambil secukupnya kemudian diteteskan pada *celluloid strip*, letakkan pada timbangan *mikro balance*, sesuaikan skalanya
- Ambil dengan kuas kemudian aplikasikan pada kavitas, sampai melapisi seluruh dinding kavitas
- Jumlah bahan bonding tipe *self etch* yang diperlukan dapat dilihat pada timbangan *mikro balance*, yaitu sebesar bahan bonding yang diteteskan pada dinding kavitas. Didapatkan sejumlah 0,0117 mg.

3.8.2 Pembuatan sampel

- Bahan bonding merk Xeno III di teteskan diatas *aluminium foil*
- Disinar dengan *Light Curing Units*.
- Sebanyak 8 sampel disinar dengan waktu maksimal yaitu 60 detik (waktu maksimal) (sesuai pernyataan Craig, 2002:243 bahwa lama penyinaran efektif

adalah antara 20 – 60 detik) sedangkan 8 sampel lainnya disinari dengan waktu sesuai rekomendasi pabrik yaitu 10 detik.

- Dilakukan dalam *laminar flow cabinet* untuk mendapatkan sterilitas bahan.

3.8.3 Penelitian Untuk Uji Toksisitas Terhadap Kultur Sel

a. Persiapan Kultur Sel

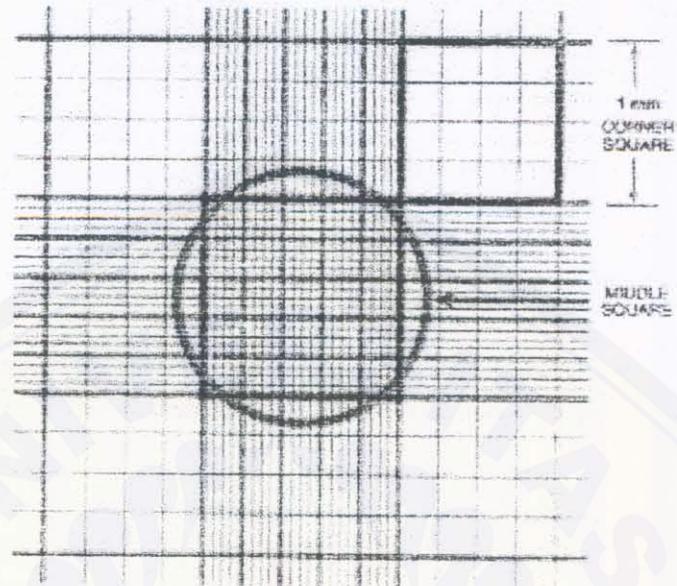
- Sel (dalam fial) dari N₂ cair dibiarkan pada suhu kamar. Jika sudah cair dimasukkan dalam *conicle* 15 ml yang telah diisi media pencuci *Medium Eagles Minimum* yang mengandung *versin tripsin* 1ml.
- Diputar dengan kecepatan 1200 rpm selama 2 menit
- Supernatan dibuang, ditambah lagi media pencuci
- Diputar kembali 1200 rpm selama 2 menit
- Supernatan dibuang, kemudian ditambah media kultur (penumbuh yang terdiri dari *Medium Eagles Minimum*, *Serum Bovin* 10%), resuspensi dan dimasukkan dalam botol kultur kecil.
- Inkubasi selama 37°C, O₂ 95%, CO₂ 5% selama 2 x 24 jam
- Bila sel tumbuh banyak maka sel dapat diperbanyak ke dalam botol kultur yang lebih besar untuk diperbanyak.
- Buang supernatan, sehingga hanya tinggal sel yang menempel pada dinding botol kultur.
- Tambahkan *tripsin versene* 1 ml untuk membantu melepas sel dalam botol kultur (gerakkan perlahan botol kultur sehingga sel dapat lepas)
- Ambil media kultur (*MEM*, *bovine serum* 10%, *PBS* 10%) dengan pipet pasteur, masukkan dalam botol kultur dengan cara menyemprotkan sehingga sel lepas. Untuk membantu sel lepas dilakukan *scrapping*.
- Jika sel sudah lepas dari dinding botol kultur, ambil semua suspensi tersebut dengan pipet pasteur.
- Masukkan ke *conicle tube* 15 ml, kemudian diputar 1200 rpm selama 3 menit.
- Buang supernatan, tambahkan media pencuci (*PBS*)
- Diputar 1200 rpm selama 3 menit
- Tambahkan media kultur (*MEM*, *bovine serum* 10%,) resuspensi.

- Sel siap digunakan untuk keperluan uji sitotoksitas atau bisa dibiakkan ke dalam botol kultur yang baru.

b. Cara Pengujian Toksisitas Bahan Bonding Terhadap Kultur Sel

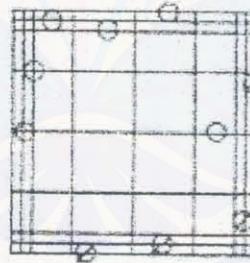
- Dengan pinset steril, sampel diletakkan pada dasar *petri disposable* tepat ditengah dengan menggunakan malam perekat (*sticky wax*)
- Kemudian memasukkan media yang mengandung sel dengan masing-masing kelompok sebanyak 1 ml dengan kepadatan sel sebesar 2×10^5 baik kelompok kontrol sel, kontrol perekat, kelompok perlakuan (penyinaran 60 detik) serta kelompok perlakuan (penyinaran 10 detik) dan diinkubasikan selama 2x24 jam dengan suhu 37°C (Craig, 2002:13)
- Setelah 2x 24 jam dihitung jumlahnya dengan cara (Effendy, 1993:204-206)
 - a. media dituang dari petri disposable sel, lapisan sel dicuci dengan larutan buffer fosfat bebas kalsium dan magnesium.
 - b. Kemudian ditambahkan larutan versin tripsin 1 ml
 - c. Setelah sel lepas ditambahkan media dan larutan tripan biru sehingga volumenya menjadi 1 ml dengan kepadatan sel 2×10^5 sel/ml
 - d. Selanjutnya segera suspensi sel dihitung dengan hemositometer. Sel yang dihitung adalah sel yang hidup, ditandai dengan warna terang dan sel yang mati adalah berwarna biru. Gambar hemositometer beserta cara menghitungnya dapat dilihat pada halaman berikutnya.

DIAGRAM I
STANDARD HEMOCYTOMETER CHAMBER



The circle indicates the approximate area covered at 100 \times microscope magnification (10 \times ocular and 10 \times objective). Include cells on top and left touching middle line (C). Do not count cells touching middle line at bottom and right (D). Count 4 corner squares and middle square in both chambers (one chamber represented here).

DIAGRAM II
CORNER SQUARE (ENLARGEMENT)



Count cells on top and left touching middle line (C). Do not count cells touching middle line at bottom and right (D).

Gambar 1. Kamar hitung dalam hemositometer dan diagram cara penghitungannya

(Sigma, 1997:1753)

3.9 Pengamatan

Sel yang dihitung adalah sel yang hidup, ditandai dengan warna terang dan sel yang mati adalah berwarna biru. Dari hasil perhitungan semua sel tersebut diatas dapat digunakan perhitungan cara Bird dan Forrester (1981) yang diperoleh dengan membagi jumlah sel yang hidup dengan total sel yang hidup dan yang mati dikalikan 100%.

Dengan rumus dapat ditulis sebagai berikut:

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

Jadi toksisitas dapat dihitung dengan cara melihat selisih persentase antara sel hidup dan sel yang mati yaitu $100\% - \% \text{ sel hidup} = \% \text{ sel mati}$ (toksisitas)

3.10 Analisa Data

Untuk menentukan pengaruh toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak terhadap kultur sel BHK-21 dilakukan uji one way Anava dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) yang kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey HSD apabila ada perbedaan bermakna.

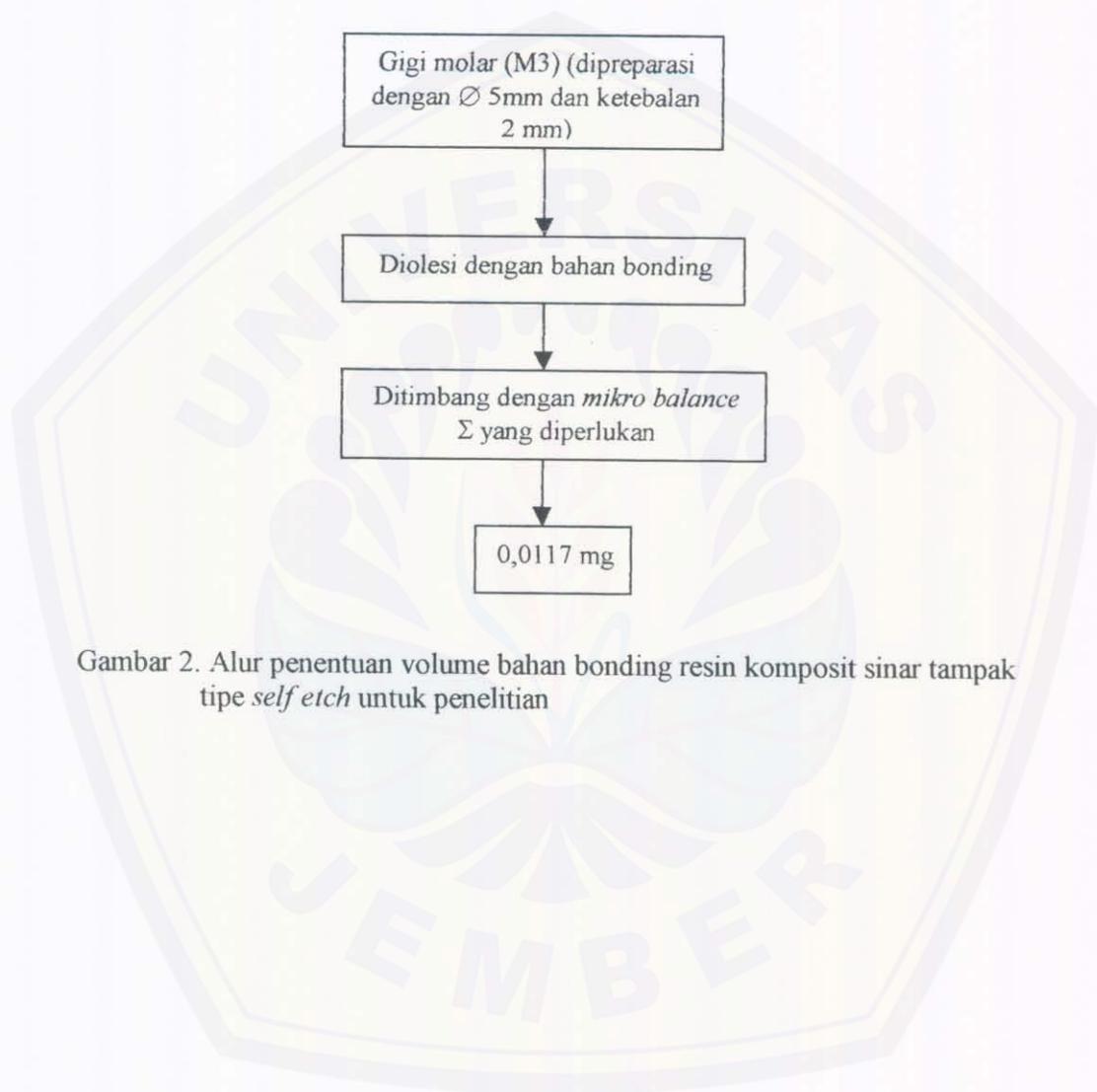
3.11 Rancangan Data Penelitian

Sampel	Kontrol sel(+)		Kontrol bahan perekat(-)		Penyinaran 60 detik		Penyinaran 10 detik	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
Rata-rata								

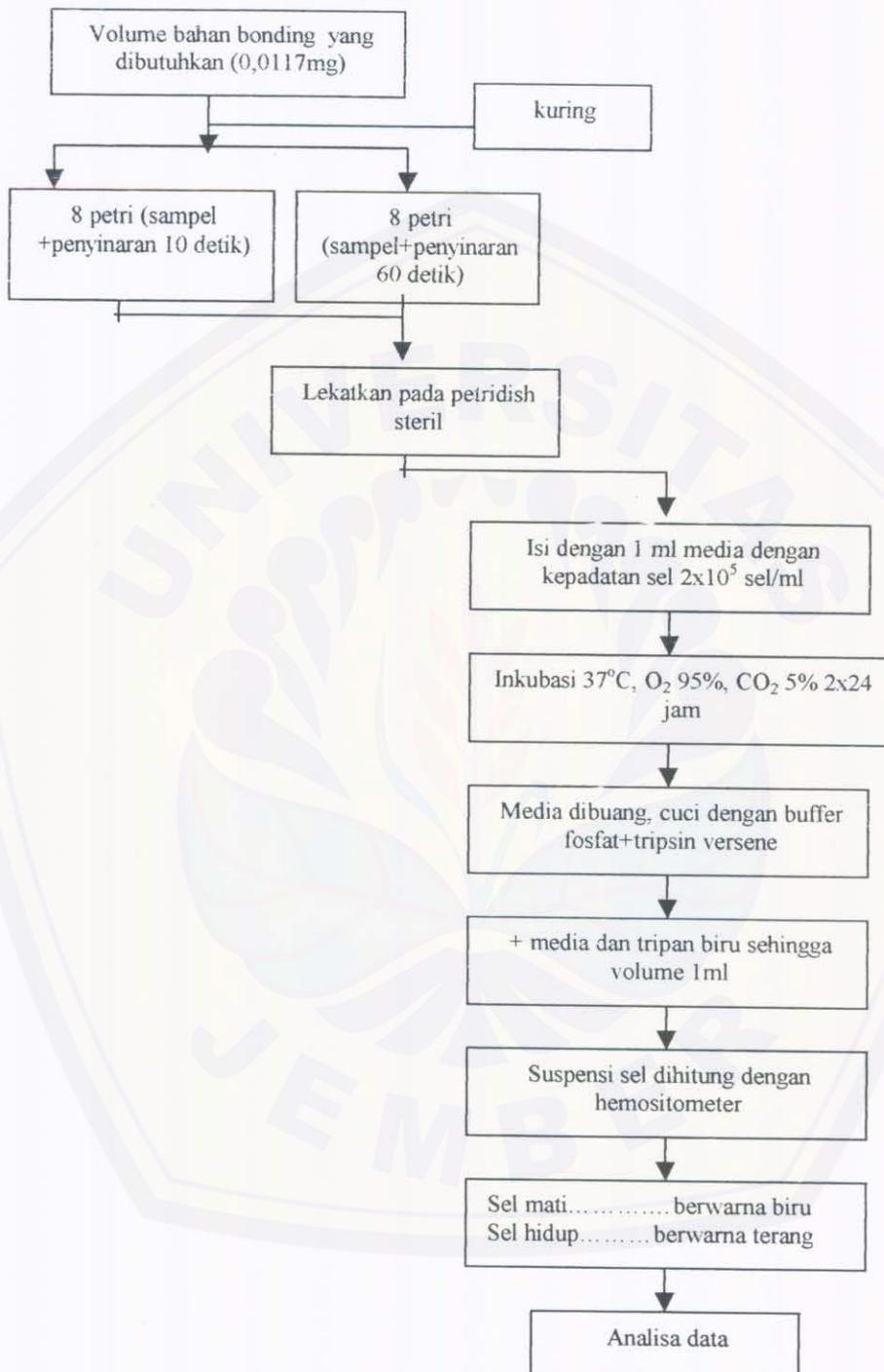
Keterangan: A = Sel hidup (%)
B = Sel mati (%)

ALUR PENELITIAN

Alur 1.

Penentuan volume bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*

Gambar 2. Alur penentuan volume bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* untuk penelitian

Alur 2. Alur uji toksisitas bahan bonding terhadap sel BHK-21

Gambar 3. Alur penelitian untuk uji toksisitas



IV. HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil Penelitian

Data hasil penelitian untuk mengetahui toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* terhadap sel *Baby Hamster Kidney-21*(BHK-21) tersaji dalam tabel 1.

Tabel 1. Rerata sel BHK-21 yang hidup serta toksisitasnya setelah pemberian bahan bonding dengan penyinaran 10 detik, 60 detik, kontrol sel dan kontrol perekat (%)

Sampel	Kontrol sel(+)		Kontrol perekat(-)		Penyinaran 60 detik		Penyinaran 10 detik	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	96,2	3,8	92,7	7,3	68,2	31,8	31,4	68,6
2	96,8	3,2	92,5	7,5	69,6	30,4	32,5	67,5
3	96	4,0	93,5	6,5	68,8	31,2	33,3	66,7
4	97,2	2,8	92	8,0	68	32	32,2	67,8
5	95,9	4,1	92,7	7,3	69,2	30,8	33,4	66,6
6	97,1	2,9	92,6	7,4	67,1	32,9	32,6	67,4
7	95,6	4,4	93	7,0	66,4	33,9	31	69
8	95,5	4,5	93,4	6,6	67,3	33,6	32,3	67,7
Rata-rata	96,287	3,712	92,8	7,20	68,075	33,075	32,337	67,66

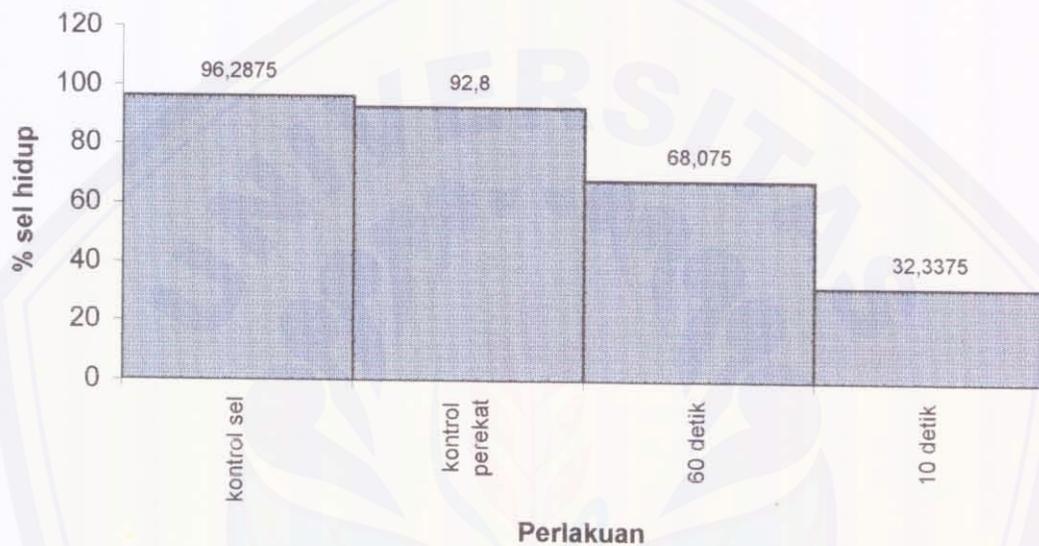
Keterangan

A : sel hidup (%)

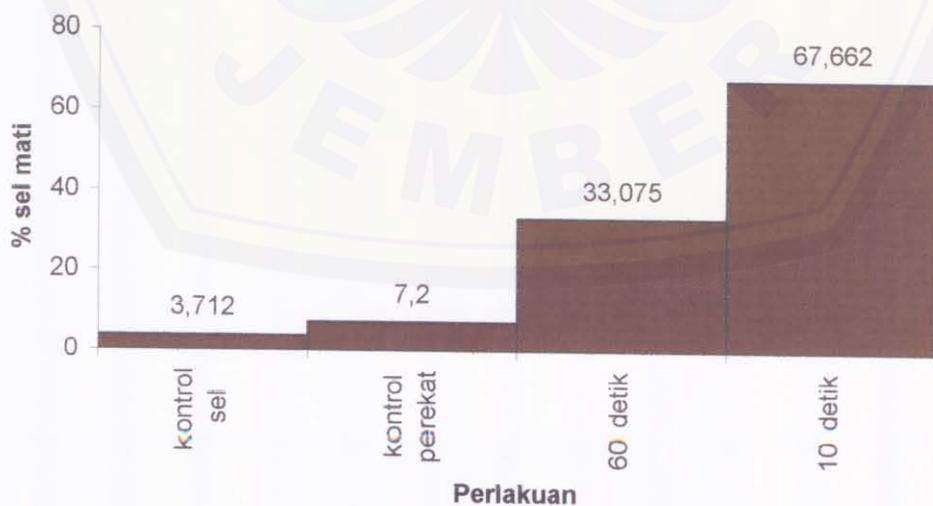
B : sel mati(%)

Dalam tabel I tercantum nilai rata-rata % sel hidup *Baby Hamster Kidney-21* antara kelompok kontrol sel, kelompok kontrol perekat dan kelompok perlakuan. Nilai rerata tertinggi untuk persentase jumlah sel yang hidup pada kelompok kontrol sel yaitu 96,287% dengan jumlah sel mati sebesar 3,712%. Kontrol (+) dengan *sticky wax* yaitu kontrol perekat didapatkan rerata sebesar

92,8% dan jumlah sel mati sebesar 7,20% sedangkan rerata untuk kelompok perlakuan dengan bahan bonding pada penyinaran 60 detik didapatkan rerata sebesar 68,075% dengan jumlah sel mati sebesar 33,075%. Rerata terendah untuk jumlah sel BHK-21 yang hidup didapatkan pada kelompok perlakuan dengan penyinaran selama 30 detik yaitu sebesar 32,337% dengan jumlah sel mati tertinggi yaitu sebesar 67,662%.



Grafik 1. Rerata sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* (%)



Grafik 2. Rerata sel BHK-21 yang mati setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* (%).

4.2 Analisis Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian diatas, selanjutnya dilakukan uji *Homogeneity of Variances*. Dari hasil uji dengan menggunakan *Levene test* dapat diketahui $p=0,173$

Tabel 2. Hasil uji homogenitas kelompok kontrol dan perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig
1,786	3	28	0,173

Keterangan

Levene Statistic : Taraf kepercayaan
 df1 : Derajat bebas kelompok
 df2 : Standar error
 Sig : Probabilitas

Dari hasil uji homogenitas pada tabel 2 diatas diketahui bahwa $p=0,173$ ($p>0,05$) berarti data hasil penelitian tersebut adalah homogen. Selanjutnya untuk mengetahui apakah ada perbedaan dari kelompok perlakuan dilakukan uji ANAVA 1 arah. Hasil dari uji ANAVA tercantum dalam tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Hasil uji ANAVA kelompok kontrol dan perlakuan

Sumber varians	Jumlah kuadrat	Derajat kebebasan	Rata-rata kuadrat	F hitung	Probabilitas
Antar kelompok	20883,838	3	6961,279	10767,342	0,000
Dalam kelompok	18,103	28	0,647		
Total	20901,940	31			

Hasil uji ANAVA diatas menunjukkan bahwa angka probabilitas yang didapat adalah 0,000 ($p<0,05$), artinya terdapat perbedaan diantara kelompok tersebut.

Kemudian untuk mengetahui kelompok perlakuan yang mana yang berbeda bermakna, maka dilakukan uji Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil dari uji tersebut terdapat dalam tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Hasil uji Tukey HSD pada kelompok kontrol dan perlakuan

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)						
Tukey HSD						
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol sel	kontrol perekat	3.488*	.402	.000	2.390	4.585
	penyinaran 60 detik	28.213*	.402	.000	27.115	29.310
	penyinaran 10 detik	63.950*	.402	.000	62.852	65.048
kontrol perekat	kontrol sel	-3.488*	.402	.000	-4.585	-2.390
	penyinaran 60 detik	24.725*	.402	.000	23.627	25.823
	penyinaran 10 detik	60.463*	.402	.000	59.365	61.560
penyinaran 60 detik	kontrol sel	-28.213*	.402	.000	-29.310	-27.115
	kontrol perekat	-24.725*	.402	.000	-25.823	-23.627
	penyinaran 10 detik	35.737*	.402	.000	34.640	36.835
penyinaran 10 detik	kontrol sel	-63.950*	.402	.000	-65.048	-62.852
	kontrol perekat	-60.463*	.402	.000	-61.560	-59.365
	penyinaran 60 detik	-35.737*	.402	.000	-36.835	-34.640

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Keterangan * : Berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji Tukey HSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada seluruh kelompok perlakuan dengan penyinaran 10 detik, kelompok perlakuan dengan penyinaran 60 detik, kontrol sel dan kontrol perekat. Hal ini berarti bahwa lama penyinaran dapat mempengaruhi toksisitas (jumlah sel BHK-21 yang mati) setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch*.



V. PEMBAHASAN

Salah satu bahan yang digunakan untuk membantu perlekatan (adhesi) antara resin komposit dengan dentin adalah bahan bonding tipe *self etch*. Bahan bonding resin komposit sinar tampak sendiri adalah berupa cairan sedikit kental yang dapat dengan mudah diaplikasikan pada dinding kavitas dan tepi email berupa resin tanpa bahan pengisi (FJ Harty, 1995:41).

Kekurangan bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* adalah memiliki pH yang lebih rendah dari normal yang kemungkinan bersifat toksik. Hasil keasaman yang tinggi mempunyai efek demineralisasi yang lebih dalam pada enamelnya daripada etsa asam yang menggunakan asam fosfat (Van Meerbeek, 2003:231-232).

Efek toksisitas dapat dibuktikan dengan melakukan uji sitotoksitas secara invitro terhadap kultur sel fibroblas BHK-21 dengan teknik pewarnaan tripan biru. Sel BHK-21 berasal dari fibroblas ginjal hamster. Penggunaan sel fibroblas ini karena merupakan sel terpenting dan merupakan komponen terbesar dari pulpa ligamen periodontal dan gingival (Lestari, 2003:141).

Freshney dalam Sulistyani (2001:221) mengatakan bahwa sel BHK-21 merupakan bahan kultur sel fibroblas (*cell lines*) berasal dari sel-sel embrionik atau sel-sel jaringan muda. Sel BHK-21 banyak digunakan dalam uji toksisitas bahan serta obat-obatan di bidang kedokteran gigi (Lestari, 2003:141)

Dari hasil penelitian diperoleh persentase rerata sel BHK-21 yang hidup secara berurutan adalah kontrol sel (96,287%), kontrol perekat (92,8%), perlakuan dengan penyinaran 60 detik (68,075%) dan perlakuan dengan penyinaran 10 detik (32,337%). Artinya jumlah sel mati yang terbesar adalah pada kelompok perlakuan dengan penyinaran 10 detik yaitu sebesar 67,66%

Hasil uji Anava satu arah menunjukkan bahwa sel BHK-21 yang hidup tanpa paparan bahan bonding tipe *self etch* dan setelah terpapar bahan bonding tipe *self etch* dengan lama penyinaran 10 detik serta 60 detik terdapat perbedaan ($p < 0,05$). Uji Tukey HSD menunjukkan perbedaan bermakna, artinya bahwa

lama penyinaran pada bahan bonding tipe *self etch* mempengaruhi jumlah kematian sel BHK-21.

Perbandingan jumlah kematian sel antara kelompok dengan penyinaran 60 detik dan penyinaran 10 detik terlihat pada tabel bahwa kelompok dengan penyinaran 10 detik memiliki daya toksik lebih besar dibandingkan kelompok dengan penyinaran 60 detik (tabel 1, grafik 1 dan 2). Hasil uji Tukey HSD antara kelompok perlakuan yang terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dengan penyinaran 10 detik dan 60 detik menunjukkan secara statistik terdapat perbedaan bermakna. Jumlah kematian sel antara kelompok penyinaran 60 detik lebih kecil daripada kelompok dengan penyinaran 10 detik. Persentase kematian sel pada penyinaran 60 detik adalah 31,925% sedangkan pada kelompok perlakuan dengan penyinaran 10 detik memiliki persentase kematian sel sebesar 67,663% (tabel 4).

Hal ini kemungkinan disebabkan oleh komposisi dari bahan bonding tersebut. Vajhrabaya dkk (2003) mengatakan bahwa kemungkinan besar asam yang terdapat dalam satu botol setelah diaplikasikan pada praktek klinis bersifat toksik. Monomer-monomer sisa yang ada akibat dari proses polimerisasi yang tidak sempurna dapat menyebabkan toksik (Wei, 2003).

Smear plugs yang tidak terbilas bersih dapat terjebak didalam resin membentuk *smear plugs* terhibridisasi, yang menutup tubulus dentinalis, sehingga penggunaan bahan adhesif *self etch* akan menimbulkan sensitifitas post operatif minimal.

Proses kematian sel, kemungkinan disebabkan oleh pH yang sangat rendah ($\text{pH} < 1$) menyebabkan bahan bonding ini memiliki kondisi yang sangat asam (Wei, 2003:2). Menurut Hanks dalam Lestari (2003:142) bahwa bahan kimia tersebut mula-mula pada membran sel menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel sehingga membran plasma interna terpapar oleh bahan tersebut kemudian terjadi pembengkakan sel, yang akhirnya akan menghambat proses sintesis sampai terjadi kematian.

Alasan lain dari kemungkinan terjadinya kematian sel yang berarti adanya suatu toksisitas adalah adanya dentin bonding agent yang terdiri atas

HEMA yang digunakan untuk menambah kekuatan bonding ke dentin. Berat molekul HEMA adalah 130,14 dan bersifat sangat larut dalam air. Tingginya konsentrasi HEMA serta didukung oleh pelepasannya yang sangat cepat dari bahan bonding tersebut menyebabkan bebasnya pelepasan, serta tidak terpolimerisasinya HEMA yang terdapat di dalam tubulus dentinalis. Sisa air memasuki tubuli dentinalis dan lapisan hibrid memungkinkan dihasilkannya penurunan polimerisasi dan terjadi peningkatan pelepasan monomer. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Bovillaquet dkk (1981) menduga bahwa berkurangnya ketebalan dentin, partikel dentin dengan permeabilitas yang tinggi dan tidak terpolimerisasinya monomer memiliki potensi yang menyebabkan tingginya resiko pada kesehatan dari jaringan pulpa. Oleh karena itu, sistem dari bahan bonding dentin yang terdiri dari HEMA dengan konsentrasi tinggi menyebabkan besarnya rata-rata difusi HEMA dan monomer yang lain terhadap dentin (Vajhrabaya, 2003:443).

Pada tabel 1 terlihat bahwa rata-rata sel hidup pada kelompok perlakuan yang terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dengan penyinaran 60 detik memiliki jumlah sel yang hidup diatas 50%. Ini berarti jumlah kematian jumlahsel di bawah 50%. Sedangkan pada kelompok penyinaran 10 detik jumlah sel hidup adalah dibawah 50%, dengan jumlah kematian sel diatas 50%.

Menurut Telli et all (1999:812) bahwa sitotoksisitas dilihat dari nilai persentase sel mati. Nilai CD 50 digunakan sebagai ekspresi dari sitotoksisitas. Nilai kurang dari CD 50 dianggap tidak toksik, dengan kata lain bahwa parameter sitotoksisitas adalah berdasarkan CD 50 artinya suatu bahan dikatakan toksik apabila persentase sel hidupnya setelah terpapar bahan tersebut kurang dari 50%.

Besarnya persentase sel hidup mencapai diatas 50% kemungkinan karena lamanya waktu penyinaran yaitu 60 detik (waktu maksimal). Semakin lama penyinaran (60 detik), toksisitas bahan akan semakin menurun. Bahan bonding yang disinari dengan lama penyinaran 60 detik akan mengalami *setting* (pengerasan). Hal ini karena semakin lama penyinaran akan menghasilkan energi sinar yang akan meningkat selama proses polimerisasi (Sakaguchi dalam Lestari,

2003:141), sedangkan dengan lama penyinaran yang minimal yaitu 10 detik bahan bonding masih berupa cairan sehingga memungkinkan kandungan monomer sisa dari bahan bonding lebih banyak daripada dengan penyinaran 60 detik dan menyebabkan toksisitas lebih besar.

Hensten *dalam* Nirwana (2001:119) mengatakan bahwa lama penyinaran yang tidak tepat dan benar (*undercured*) adalah proses penyinaran dalam waktu singkat, yang akan menyebabkan proses polimerisasi tidak sempurna, sehingga kandungan monomer sisa meningkat. Hal ini juga didukung oleh Lestari (2003:77) yang mengatakan bahwa dengan adanya monomer sisa menunjukkan proses polimerisasi yang tidak sempurna. Monomer sisa yang selalu dihasilkan oleh reaksi yang tidak pernah sempurna pada waktu polimerisasi bersifat toksik (Hanks dkk *dalam* Effendy, 1993:6).

Lestari (2003:87) mengatakan bahwa dengan berkurangnya monomer sisa bahan, dapat mengurangi terlepasnya komponen yang tidak terpolimerisasi tersebut ke dalam kultur, sehingga dapat menurunkan sitotoksitas. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan pada kelompok perlakuan yang terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dengan penyinaran 60 detik lebih rendah sitotoksitasnya jika dibandingkan kelompok perlakuan dengan lama penyinaran 10 detik.

Kelompok kontrol perekat terlihat pada tabel bahwa perekat yang digunakan untuk merekatkan bahan bonding pada dasar petri tidak memiliki toksik. Hal ini seperti yang dikatakan oleh Caughman dkk (1990:514) bahwa *dental sticky wax* tidak menunjukkan efek pada penelitian toksisitas. Pada kelompok kontrol sel. Setelah 2x24 jam terlihat bervariasi pada 7 kali pengulangan. Hal itu kemungkinan dapat disebabkan saat membagi jumlah sel pada masing-masing petri tidak merata, adanya pemisahan sel-sel sebelum diletakkan pada masing-masing petri serta pengocokan yang dilakukan kurang keras sehingga sel-sel tidak dapat memisah secara sempurna dan menyebabkan masih banyak sel yang bergerombol. Hal ini sangat berpengaruh pada pertumbuhan sel.

VI. SIMPULAN DAN SARAN

6.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa statistik dapat disimpulkan bahwa:

1. Bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* bersifat toksik terhadap sel BHK-21 pada penyinaran 10 detik dan tidak bersifat sitotoksik pada penyinaran 60 detik.
2. Rerata persentase jumlah sel BHK-21 yang mati pada penyinaran 10 detik sebesar 67,7% sedangkan pada penyinaran 60 detik sebesar 33,075%.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, beberapa saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dengan menggunakan kultur sel (*cell lines*) fibroblas gingiva manusia.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen penyusun bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* apa yang menyebabkan toksisitas.



DAFTAR PUSTAKA

- Baum .**1997. *Buku Ajar Ilmu Konservasi Gigi*; Jakarta:Penerbit Buku Kedokteran EGC,pp.253-300.
- Bird BR, Forrester FT.** 1981. *Basic Laboratory Technique in Cell Culture*; USA Departement of Health and Human Service: Public Health Service Centers for Disease Control,pp:43-57.
- Caughman WF, Caughman GB, Dominy WT,Schuster GS.** “Glass ionomer and composite resin cements: Effect on oral cells.” *Journal Phrostatic Dentistry.* 1990.63.pp:513-520
- Craig RG, Powers JM.** *Restorative Dental Material's 11th ed.* New York : Mosby Co. 2002,pp:136-281
- Effendy R.**1993. *Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Resin Komposit Terhadap Sifat Kimia, Fisik, Mekanik dan Biokompatibilitas.* Disertasi; Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.pp:1-206
- Ford P.** 1993. *Restorasi Gigi*; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC,pp.66-69.
- Freshney RI.** 1987. *Culture of Animal Cell Zed*; New York; Allan R. Liss.Inc:1-13, 70-73, 206-247
- Harty EJ, Ogoston R.** 1995. *Kamus Kedokteran Gigi*; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC,pp:41
- Indriana T.**2000, *Analisis dan Toksisitas Pelepasan Nikel dari Peranti Cekat Ortodonti .*Tesis; Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga,pp.5-33
- 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”. *Journal Phrostatic Dentistry.*75:183-187.
- Lestari S.** 2003. *Lama penyinaran dan perendaman dalam saliva buatan terhadap monomer sisa metil metakrilat dari resin komposit sinar tampak dan sitotoksitasnya.* Tesis; Surabaya: Program Pasca Sarjana universitas Airlangga, pp: 24, 45-46,77,78,85.
- Lestari S.** 2003. “Pengaruh Lama Penyinaran Resin Komposit Sinar Tampak yang Direndam Dalam Saliva Buatan pH 5,5 Terhadap Toksisitas Sel” *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal):*139-142.

- Nirwana I.** 2001. "Kandungan monomer sisa pada resin akrilik rapid cured dengan proses curing berbeda." *Majalah Kedokteran Gigi*. Surabaya.34:119-121
- Meerbeek B Van, et all.** 2003. "Adhesion to Enamel and Dentin Current Status and Future Challenges". *Operative Dentistry*: 215-235.
- Pashley DH, Tay FR.** 2001. "Aggressiveness of Contemporary Self Etching Adhsives Part II: Etching Effects on Unground Enamel". *Dental Material*.17: 430-444.
- Schamlz G PhD DDS, et all.** 2002. "Cytotoxicity of Low pH Dentin Bonding Agents in a Dentin Barrier Test In Vitro". *Journal of Endodontics*. 28th: 189-192.
- Sigma.** 1997. *Biochemicals and Reagents for Life Science Research*;USA:Sigma Chemical Company.pp:1753
- Sulistiyani.** 2001." Uji Toksisitas Obat Kumur Klorheksidin Terhadap Kultur Sel". *Majalah Kedokteran Gigi. FKG Unair*: 221-223.
- Tang A, Yunliu, Bjorkman L, Ekstrand J.** 1990."In vitro cytotoxicity of orthodontic bonding resin human oral fibroblast." *American Journal and Dentofacial Orthodontic*.116:132-137.
- Tay FR, Pashley DH.** 2001. "Aggresiveness of Contemporary Self Etching Systems Part I: Depth of Penetration Beyond Dentin Smear Layer". *Dental Materials*.17:296-308.
- Telli C, Serper A, Dogen AL, GUC D.**1999. "Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal Sealers by MTT assay." *Journal Endodontics*. 25: 811-813.
- Torrie HJ, Steel R GD.** 1995. *Prinsip dan Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama ,pp:145-146.
- Vajrabhaya L, et all.** 2003. "Cytotoxicity Evaluation of Single Component Dentin Bonding Agents". *Operative Dentistry* : 442-444.
- Wei SH, Tay FR.** 2003. *Xeno III and Self Etching* . Clinical Suplement, Update,pp.1-5.
- Winarto S S.** 1997."Kegagalan Tumpatan Komposit dan Berbagai Penyebabnya". *Majalah Kedokteran Gigi. FKG Usakti* :83-91.

Lampiran 1

Rerata persentase (%) sel BHK-21 yang hidup dan toksisitasnya setelah terpapar bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* dengan penyinaran 10 detik dan 60 detik serta kelompok kontrol sel dan kontrol perekat.

Sampel	Kontrol sel		Kontrol bahan perekat (-)		Penyinaran 60 detik		Penyinaran 10 detik	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	96,2	3,8	92,7	7,3	68,2	31,8	31,4	68,6
2	96,8	3,2	92,5	7,5	69,6	30,4	32,5	67,5
3	96	4,0	93,5	6,5	68,8	31,2	33,3	66,7
4	97,2	2,8	92	8,0	68	32	32,2	67,8
5	95,9	4,1	92,7	7,3	69,2	30,8	33,4	66,6
6	97,1	2,9	92,6	7,4	67,1	32,9	32,6	67,4
7	95,6	4,4	93	7,0	66,4	33,9	31	69
8	95,5	4,5	93,4	6,6	67,3	33,6	32,3	67,7
Rata-rata	96,287	3,712	92,8	7,20	68,075	33,075	32,337	67,66

Keterangan

A = Sel hidup (%)

B = Toksisitas (%)

Lampiran 2. Daftar gambar penelitian



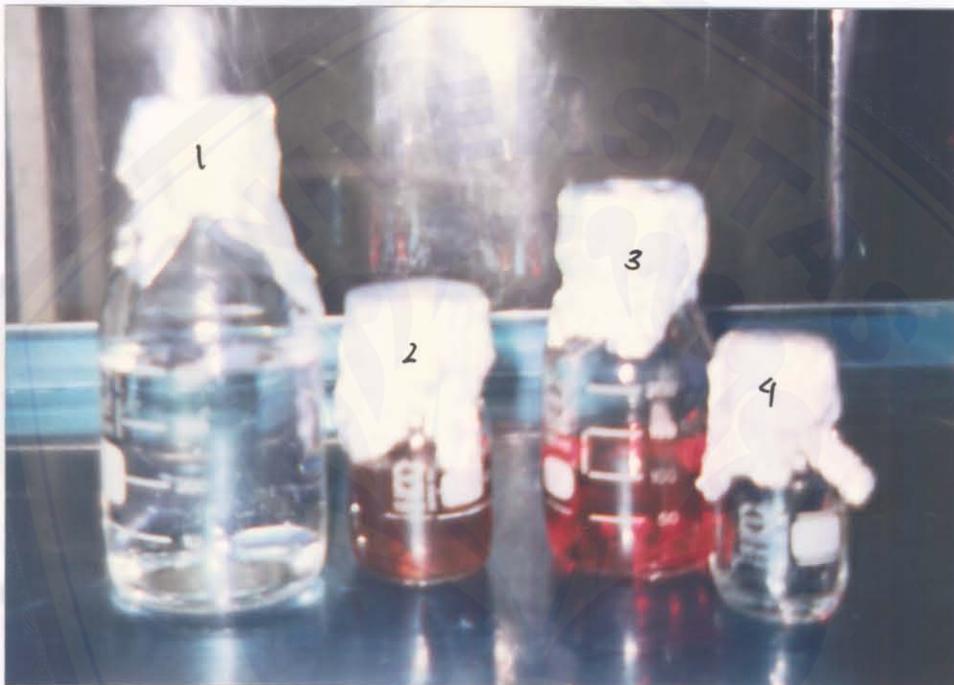
Gambar 4. Bahan bonding resin komposit sinar tampak tipe *self etch* merk Xeno III (Germany) dan *light curing units* (Lytex, America)



Gambar 5. Sel BHK-21 di dalam botol kultur



Gambar 6. Proses pembuatan sampel dalam *laminar flow cabinet*



Gambar 7. Media penumbuh sel

1. PBS (Phosphat Buffer Saline)
2. Bovine serum
3. Media Eagle's
4. Versene tripsin



Gambar 8. Sel BHK-21 beserta bahan bonding dalam *petri disposable* steril yang siap untuk diinkubasi 37°C 2 x 24 jam



Gambar 9. Sel BHK-21 setelah ditambahkan tripan biru dan siap untuk dihitung dalam hemositometer dengan mikroskop elektrik



Lampiran 3

Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)

Case Summaries^a

		kontrol sel	kontrol perekat	penyinaran 60 detik	penyinaran 10 detik
1		96.20	92.70	68.20	31.40
2		96.80	92.50	69.60	32.50
3		96.00	93.50	68.80	33.30
4		97.20	92.00	68.00	32.20
5		95.90	92.70	69.20	33.40
6		97.10	92.60	67.10	32.60
7		95.60	93.00	66.40	31.00
8		95.50	93.40	67.30	32.30
Total	N	8	8	8	8
	Mean	96.2875	92.8000	68.0750	32.3375
	Std. Deviation	.6643	.4899	1.1016	.8314

a. Limited to first 100 cases.

Uji Distribusi Normal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kontrol sel	kontrol perekat	penyinaran 60 detik	penyinaran 10 detik
N		8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	96.2875	92.8000	68.0750	32.3375
	Std. Deviation	.6643	.4899	1.1016	.8314
Most Extreme Differences	Absolute	.177	.206	.134	.184
	Positive	.177	.206	.134	.126
	Negative	-.155	-.145	-.120	-.184
Kolmogorov-Smirnov Z		.502	.582	.379	.521
Asymp. Sig. (2-tailed)		.963	.887	.999	.949

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 4**Uji Kehomogenan Ragam****Test of Homogeneity of Variance**

Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	1.786	3	28	.173
Based on Median	1.744	3	28	.181
Based on Median and with adjusted df	1.744	3	23.842	.185
Based on trimmed mean	1.776	3	28	.175

Lampiran 5

Oneway

Descriptives

Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol sel	8	96.288	.664	.235	95.732	96.843	95.5	97.2
kontrol perekat	8	92.800	.490	.173	92.390	93.210	92.0	93.5
penyinaran 60 detik	8	68.075	1.102	.389	67.154	68.996	66.4	69.6
penyinaran 10 detik	8	32.338	.831	.294	31.642	33.033	31.0	33.4
Total	32	72.375	25.966	4.590	63.013	81.737	31.0	97.2

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.786	3	28	.173

ANOVA

Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20883.838	3	6961.279	10767.342	.000
Within Groups	18.103	28	.647		
Total	20901.940	31			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)
Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol sel	kontrol perekat	3.488*	.402	.000	2.390	4.585
	penyinaran 60 detik	28.213*	.402	.000	27.115	29.310
	penyinaran 10 detik	63.950*	.402	.000	62.852	65.048
kontrol perekat	kontrol sel	-3.488*	.402	.000	-4.585	-2.390
	penyinaran 60 detik	24.725*	.402	.000	23.627	25.823
	penyinaran 10 detik	60.463*	.402	.000	59.365	61.560
penyinaran 60 detik	kontrol sel	-28.213*	.402	.000	-29.310	-27.115
	kontrol perekat	-24.725*	.402	.000	-25.823	-23.627
	penyinaran 10 detik	35.737*	.402	.000	34.640	36.835
penyinaran 10 detik	kontrol sel	-63.950*	.402	.000	-65.048	-62.852
	kontrol perekat	-60.463*	.402	.000	-61.560	-59.365
	penyinaran 60 detik	-35.737*	.402	.000	-36.835	-34.640

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Jumlah sel BHK-21 yang hidup setelah terpapar Bahan Bonding RKST Tipe Self Etch (%)

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
penyinaran 10 detik	8	32.338			
penyinaran 60 detik	8		68.075		
kontrol perekat	8			92.800	
kontrol sel	8				96.288
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Means Plots

