

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA TEORI

2.1. Resin Pit and Fissure Sealant

2.1.1. Komposisi

Berbagai macam teknik dan material telah digunakan untuk mencegah karies pada area rentan pit dan fissure dari gigi posterior, khususnya pada pasien anak. Salah satunya adalah teknik sealant yang paling sering dilakukan dengan menggunakan sistem resin yang dapat diaplikasikan ke permukaan oklusal gigi. Tujuannya adalah agar resin dapat berpenetrasi dengan mudah pada pit dan fissure dari gigi, lalu berpolimerisasi, dan menutup area tersebut sehingga mencegah terjadinya karies yang disebabkan oleh debris dan sisa makanan yang terselip.

Beberapa jenis material digunakan sebagai penyusun *Pit* dan *Fissure Sealant*, salah satunya adalah resin yang meliputi resin yang ber-*filler* dan tanpa *filler*. Sistem resin ini mencakup *cyaniacrylate*, *polyurethane*, dan produk reaksi Bis-GMA (*bisphenol-A-Glycidyl-Methacrylate*).

Salah satu jenis resin *dimetakrilat* yang sering digunakan pada resin kedokteran gigi adalah Bis-GMA *2,2-bis-(4(2-hydroxy 3-methacryloxy-propyloxy)-phenyl)-propane* yang disintesis dari reaksi antara *bisphenol-A* dan *glycidyl methacrylate*. Bis-GMA memiliki rantai monomer difungsional panjang dan kuat sehingga menyebabkan polimer berikatan silang dan memiliki kekentalan tinggi, dan membantu memperkuat matriks resin.

Biasanya pada resin dengan matrik berbahan Bis-GMA ditambahkan suatu bahan matriks resin dengan berat molekul yang lebih rendah yaitu TEGDMA (*triethyleneglycol dimethacrylate*) untuk mengurangi viskositasnya. TEGDMA memiliki 2 ikatan ganda yang reaktif pada kedua ujungnya seperti Bis-GMA. Penggunaan TEGDMA

membuat resin menjadi lebih fleksibel dan tidak mudah rapuh, serta meningkatkan kekuatan tepi. Akan tetapi, karena struktur molekul TEGDMA lebih pendek dari Bis-GMA, penggunaan TEGDMA sebagai pelarut akan menghasilkan penyusutan/ *shrinkage* yang besar setelah polimerisasi.¹¹

Pada tahun 1974, Foster dan Walker memperkenalkan resin bentuk lainnya yaitu UDMA, *Urethane Dimethacrylate*. Jenis matriks resin ini memiliki keuntungan karena viskositasnya yang rendah sehingga memfasilitasi pemasukkan *filler* tanpa harus menambahkan monomer dengan berat molekul rendah untuk mengencerkannya. Kerugian terbesar dari matriks resin jenis ini adalah sifatnya yang lebih rapuh dan memiliki pengerutan atau *shrinkage* yang lebih besar daripada Bis-GMA yang disebabkan karena panjang molekul yang lebih pendek.

Selain itu, resin juga mengandung *aktivator*, *inhibitor* dan *stabilizer*. Aktivator digunakan untuk mengawali reaksi dari polimerisasi terhadap resin pit dan fissure sealant. Untuk Aktivator biasanya pabrik atau produsen menambahkan *Camphorquinone*. *Inhibitor* digunakan untuk mencegah polimerisasi resin yang terlalu cepat atau yang tidak dikehendaki. Untuk inhibitor, biasanya digunakan bahan seperti *hydroquinone*, *4-methoxyphenol (MEHQ)* dan *2,6-di tert-butyl-4-methyl phenol* atau *butylated hidroxitoluene (BHD)* yang ditambahkan dengan konsentrasi sekitar 0.1% pada *sealant* berbahan resin. Penambahan sejumlah kecil inhibitor, seperti *hidroquinone* ke monomer dilakukan untuk meningkatkan usia bahan material. *Hidroquinone* bereaksi dengan radikal bebas kemudian menurunkan rasio dari inisiasi sehingga tidak terjadi inisiasi prematur.

Resin *pit & fissure sealant* juga mengandung *filler* walaupun dalam jumlah yang sangat sedikit yaitu sekitar 7% dari total komponen resin tersebut. Material *filler* yang dikandung dari resin biasanya berisi partikel *quartz* dan *silica*, yang ditambahkan pada resin untuk meningkatkan ketahanan terhadap abrasi dan tekanan, akan tetapi akan sedikit meningkatkan viskositas dibandingkan resin yang tidak memiliki *filler*.

Sifat fisik dari *Pit & Fissure sealant* lebih mirip dengan resin direk yang tidak berfiller dari pada komposit resin.¹²

Keberhasilan dari teknik sealant sangat tergantung pada tercapainya suatu kondisi adaptasi yang mendalam dan menyeluruh antara sealant dengan permukaan gigi, oleh karena itu dibutuhkan resin dengan viskositas yang rendah.

2.1.2. Reaksi Polimerisasi Resin Pit dan Fissure Sealant

Polimerisasi dapat diaktivasi dalam 2 cara, yaitu cahaya dan aktivator amine. Sistem polimerisasi yang diaktifasi oleh cahaya memiliki berbagai keuntungan, yaitu cepat terpolimerisasi, memiliki waktu pengaplikasian yang tidak terbatas (karena material tidak akan mengeras sebelum sumber cahaya diaplikasikan), dan sedikit menghasilkan hasil sampingan.

Unit fotoaktivasi yang paling banyak digunakan adalah lampu *Quartz Tungsten Halogen* (QTH). Cahaya yang dihasilkan dari QTH adalah energi *infrared* yang mungkin diserap oleh komposit dan hasilnya adalah peningkatan gerakan serta getaran molekul sehingga menghasilkan panas. Jadi, QTH membutuhkan filter penyerap panas untuk mengurangi energi *infrared* dari *light curing* terhadap gigi karena energi *infrared* yang berlebihan dapat menghasilkan panas hingga mencapai kamar pulpa. Penggunaan satu LCU QTH menghasilkan laju peningkatan suhu yang lebih tinggi daripada dua unit LED. Selain itu, LED menghasilkan kekerasan yang lebih rendah dan juga polimerisasi yang tidak sempurna daripada unit *curing* lainnya.¹³

Beberapa contoh jenis resin yang diaktifkan oleh cahaya dan yang diakselerasi oleh amin organik tercantum pada gambar 1.

Examples of Dimethacrylate Pit and Fissure Sealants Accepted by the ADA Council on Scientific Affairs	
Product	Manufacturer
VISIBLE LIGHT-ACTIVATED	
Alpha-Dent Light Cure Pit and Fissure Sealant	Alphadental
Concise Light Cure White Sealant	3M Dental
Helioseal F	Ivoclar North America
Prisma-Shield	Dentsply/Caulk
Seal-Rite	Pulpdent
AMINE-ACCELERATED	
Alpha-Dent Chemical Cure Pit and Fissure Sealant	Alphadental
Concise White Sealant	3M Dental

Gambar 1. Resin Pit & Fissure Sealant yang diperdagangkan¹⁴

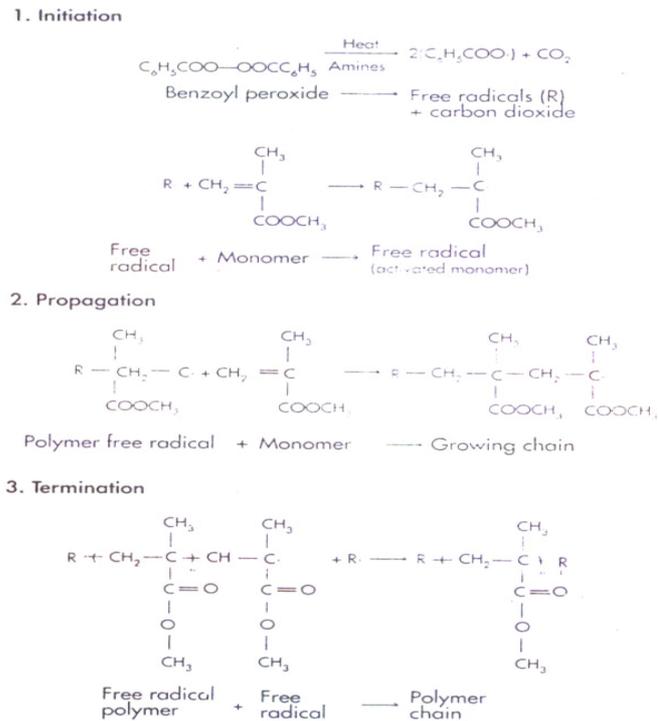
Menurut reaksi kimia yang terjadi, polimerisasi dibagi dalam dua jenis, yaitu polimerisasi adisi dan polimerisasi kondensasi. Polimerisasi adisi adalah polimerisasi yang tidak membentuk hasil sampingan, sedangkan polimerisasi kondensasi adalah polimerisasi yang menghasilkan suatu hasil sampingan dengan berat molekul rendah seperti air, alkohol. Material yang dibentuk dengan polimerisasi adisi misalnya *poly(metilmetakrylate)* yang digunakan dalam pembuatan gigi tiruan, dan resin *Pit Fissure Sealant*. Sedangkan material yang dibentuk dari mekanisme polimerisasi kondensasi misalnya karet polisulfid atau material silikon pada *impression material*.

Dalam polimerisasi terdapat 3 tahap reaksi dalam pembentukan ikatan rantai polimer. Tahap pertama adalah tahap inisiasi, di mana tahap ini melibatkan produksi radikal bebas yang akan mendukung rantai polimer untuk mulai berkembang. Molekul radikal bebas memiliki hubungan kimia dengan elektron terikat. Pada sistem yang teraktivasi cahaya, perpecahan *camphorquinone* akan menghasilkan dua molekul dengan satu elektron terikat di setiap molekul. Kemudian radikal bebas yang terbentuk akan memecahkan ikatan ganda dari monomer serta menghasilkan pergantian dari elektron terikat pada akhir monomer dan membentuk molekul monomer teraktivasi.

Tahap kedua yaitu tahap propagasi, di mana monomer yang teraktivasi memecah ikatan ganda dari monomer tambahan yang tersedia dan menghasilkan adisi yang cepat dari molekul monomer menjadi radikal

bebas. Tahap propagasi akan berlanjut menjadi pertambahan panjang rantai.

Tahap selanjutnya adalah terminasi, yang ditandai dengan pembentukan radikal bebas dan reaksi reaksi menghasilkan pembentukan cabang ikatan ganda. Proses tersebut dapat dilihat pada gambar berikut 2.



Gambar 2. Reaksi polimerisasi yang terjadi pada sistem resin¹⁴

2.1.3. Manipulasi Sealant

Teknik aplikasi *pit* dan *fissure sealant* terdiri dari enam tahap dasar yang harus dilalui, pertama dengan membersihkan dan mengetsa permukaan oklusal, kemudian mencuci area yang akan diaplikasikan, mengeringkannya, penempatan pada area tersebut, mempolimerisasikan dengan bantuan LCU, dan tahap penyelesaian dengan teknik pemolesan.

Hal yang pertama kali dilakukan adalah tindakan etsa pada daerah yang akan diaplikasikan *Sealant*. Etsa secara umum terdiri dari larutan asam fosforik 37% dalam air. Secara khusus permukaan enamel dibersihkan dengan pumis sebelum dietsa. Setelah itu, aplikasikan asam fosfat secara bebas pada area pit dan fissure dari permukaan oklusal

menggunakan kapas butir kecil dengan pinset. Kemudian tunggu larutan tersebut hingga menempel pada gigi selama 60 detik sebelum pembilasan dengan sejumlah air selama 15 detik. Pembilasan penting dilakukan karena sisa-sisa asam fosforik dapat mempengaruhi pengikatan sealant dengan enamel.

Kemudian keringkan permukaan yang telah dibilas tadi dengan pengering udara. Tahap pengeringan ini merupakan tahap yang paling penting bagi kesuksesan prosedur *sealant* karena kelembaban dapat mempengaruhi retensi *sealant* oleh *fissure*. Selama tindakan aplikasi *sealant*, kelembaban area dikelola dengan menggunakan kapas gulung. Setelah itu, *pit* dan *fissure sealant* diletakkan pada permukaan oklusal yang telah teretsa dengan menggunakan *cannula* (ujung suntikan bengkok).

Setelah sealant tersebut diaplikasikan pada enamel yang teretsa, dilakukan polimerisasi dengan menggunakan *Light Curing Unit* dengan memposisikan ujung plastik pelindung pada sumber cahaya terhadap permukaan oklusal gigi selama 20 detik.¹²

2.2. Biokompatibilitas

Banyak bahan resin yang tersedia di pasaran kedokteran gigi masih memiliki beberapa efek berbahaya bagi tubuh. Untuk itu pemerintah biasanya melakukan berbagai tes untuk mengetahui kadar racun yang terkandung dalam suatu bahan yang dimasukkan ke dalam tubuh, baik secara langsung melalui makanan, maupun secara tidak langsung seperti melalui larutnya suatu bahan kedokteran gigi yang berasal dari lingkungan kavitas mulut. Pada standard ISO 10993, semua bahan yang akan berkontak dengan jaringan memerlukan data biokompatibilitas. ISO 10993 membagi kategori biokompatibilitas bahan menurut tipe dan durasi bahan tersebut berkontak dengan jaringan yang dapat dilihat dari Gambar 3.^{15, 16}

BIOCOMPATIBILITY/SAFETY EVALUATION GUIDELINES

- A Limited Exposure (< 24 hours)
- B Prolonged Exposure (> 24 hours to 30 days)
- C Permanent Exposure (> 30 days)
- Evaluation Required by ISO, FDA, and MHLW
- Evaluation Required by ISO, FDA
- Evaluation Required by FDA
- ◆ Evaluation Required by ISO

ISO, FDA, and MHLW Test Selection Chart

Device Categories		Biological Effects Initial Evaluation										Biological Tests Supplemental Evaluation			
Body Contact	Contact Duration	Cytotoxicity	Sensitization	Irritation/Intracutaneous Reactivity	Acute Systemic Toxicity	Pyrogenicity	Subchronic/Chronic Toxicity	Genotoxicity	Implantation	Hemocompatibility	Chronic Toxicity	Cardiogenicity	Reproductive/Developmental Toxicity	Biodegradation	
		Surface Devices													
Skin	A	■	■	■											
	B	■	■	■											
	C	■	■	■											
Mucosal membranes	A	■	■	■											
	B	■	■	■	○	○	○		○						
	C	■	■	■	○	○	■	■	○			○			
Breached/ compromised surfaces	A	■	■	■	○	○									
	B	■	■	■	○	○	○		○						
	C	■	■	■	○	○	■	■	○			○			
External Communicating Devices															
Blood path, indirect	A	■	■	■	■	■				■					
	B	■	■	■	■	■	○			■					
	C	■	■	○	■	■	■	■	○	■	■	■			
Tissues/bones/dentin	A	■	■	■	○	○									
	B	■	■	□	□	□	□	■	■						
	C	■	■	□	□	□	□	■	■		□	■			
Circulating blood	A	■	■	■	■	■		○		■					
	B	■	■	■	■	■	□	■	□	■					
	C	■	■	■	■	■	■	■	□	■	■	■			
Implant Devices															
Tissues/bones	A	■	■	■	○	○									
	B	■	■	□	□	□	□	■	■						
	C	■	■	□	□	□	□	■	■		■	■			
Blood	A	■	■	■	■	■	◆		■	■					
	B	■	■	■	■	■	□	■	■	■					
	C	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			

Gambar 3. Matriks uji biokompatibilitas sesuai dengan standard ISO 10993-1¹⁶

Biokompatibilitas adalah kemampuan suatu bahan untuk tidak menimbulkan respon biologis yang merugikan jika bahan tersebut diletakkan di dalam tubuh. Setiap bahan dapat dikategorikan sebagai suatu bahan yang biokompatibel, tergantung kepada fungsi fisik dan reaksi biologis yang dihasilkan dari pengaplikasian bahan tersebut. Suatu bahan tidak dapat dilihat secara umum sebagai bahan yang biokompatibel untuk penggunaan di semua jaringan bagian tubuh, karena setiap jaringan hidup yang berinteraksi akan memberikan respon biologis yang berbeda.¹⁵

Biokompatibilitas suatu bahan dapat meliputi derajat sitotoksitas, mutagenitas dan potensinya dalam menimbulkan keganasan. Uji biokompatibilitas dilakukan pada bahan yang akan diletakkan pada tubuh manusia. Reaksi jaringan tubuh terhadap bahan sangat bervariasi tergantung kepada tipe bahan. Bahan yang dapat berfungsi saat berkontak dengan cairan biologis atau jaringan hidup dengan menimbulkan reaksi penolakan yang minimal oleh tubuh disebut bahan yang biokompatibel.¹⁵

Pengujian biokompatibilitas suatu bahan dapat dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian yang dilakukan secara *in vitro*, yaitu tanpa melibatkan organ hidup, dilakukan pada sel, enzim, atau sistem biologis yang terisolasi. Uji bahan secara *in vitro* sebagian besar dibagi menjadi pengujian untuk mengetahui sitotoksitas dan pertumbuhan sel, mengukur metabolisme dan fungsi sel serta mengukur efek mutagenitas bahan pada sel.¹⁵

Penelitian secara *in vitro* harus dapat mencerminkan respon secara *in vivo* dari sel atau paling tidak hanya terdapat perbedaan kecil yang mungkin ada pada *in vitro* dan *in vivo*.¹⁷ Pengukuran toksisitas secara *in vitro* merupakan suatu peristiwa yang terjadi dalam lingkup sel. Akan tetapi, pembentukan kembali reaksi farmakokinetik kompleks yang terjadi secara *in vivo* sangatlah sulit. Terdapat berbagai perbedaan yang signifikan dari waktu pemaparan dan konsentrasi dari agen percobaan, jumlah perbedaan konsentrasi, penetralan dan ekskresi. Banyak substansi nontoksik *in vitro* akan menjadi toksik secara *in vivo* atau sebaliknya karena telah dipengaruhi oleh berbagai enzim, salah satu contohnya adalah enzim liver. Untuk itu perlu dilakukan percobaan dan penelitian bahwa agen yang berpotensi toksik mencapai sel secara *in vitro* dalam bentuk yang sama dan waktu yang sama ketika dalam percobaan *in vivo*. Pembuktian ini mungkin perlu menggunakan tambahan pengolahan agen dengan *purified liver microsomal enzyme preparation*^{18, 19} hepatosit teraktivasi,²⁰ atau modifikasi genetik dari sel target. Respon sel terhadap bahan toksik berbeda-beda, misalnya jika secara *in vitro* berupa perubahan sel yang bertahan hidup atau metabolisme, secara *in vivo* (reaksi inflamasi, fibrosis, dan lain-lain), atau respon sistemik (*pyrexia*, pelebaran pembuluh darah, dan alergi).

Saat ini kultur sel telah menjadi salah satu obyek utama dalam berbagai penelitian tentang kehidupan. Kultur sel adalah sel yang dikondisikan pada suatu lingkungan buatan yang kondusif untuk pertumbuhannya.²¹ Berbagai perilaku, karakteristik, dan bentuk sel dapat diamati pada kultur sel. Oleh karena itu, kultur sel memiliki kegunaan yang bervariasi, antara lain untuk pengamatan biokimia sel, uji toksisitas suatu bahan, penelitian kanker, deteksi dan isolasi suatu virus, serta terapi gen.^{17, 21}

Kultur sel dapat digolongkan menjadi kultur sel primer dan kultur sel sekunder. Sel primer adalah sel yang diperoleh secara langsung dari pemisahan jaringan suatu organisme, sedangkan galur sel adalah keturunan sel yang diperoleh dari kultur sel sekunder dan telah dipisahkan secara enzimatik ataupun secara mekanis. Kultur primer memiliki tingkat perkembangan yang bervariasi, sementara kultur sel sekunder memiliki tingkat perkembangan yang biasanya tinggi. Dari kultur primer yang heterogen dan mengandung banyak sel (seperti jaringan awal), dapat dilakukan immortalisasi dan kultur sekunder hingga menjadi galur sel yang lebih memiliki kekhususan sifat serta homogen.^{22, 23}

Beberapa kriteria yang harus diperhatikan dalam pemilihan kultur sel sekunder, yaitu pertama adalah jaringan asal dari galur sel ini, misalnya dari jaringan dengan sifat perkembangan sel yang terbatas atau berkelanjutan. Galur sel yang berkelanjutan memiliki derajat perkembangan lebih cepat dan tingkat penggandaan yang lebih mudah dengan teknik klon serta akan menghasilkan jumlah sel berlimpah. Pemilihan galur sel juga dilihat dari berbagai aspek lainnya misalnya dari sel normal atau yang sudah bertransformasi; spesies sel itu berasal; karakteristik perkembangan (Siklus perkembangan sel, derajat kepadatan dari pertumbuhan sel, dll); dan ketersediaan dari sel tersebut.

2.2.1. Respon Jaringan terhadap Monomer Resin

Meskipun beberapa monomer telah dipakai sebagai bahan penyusun matriks resin, akan tetapi masih banyak efek negatif yang ditimbulkan akibat terlepasnya komponen penyusun resin tersebut, misalnya monomer matriks, inhibitor, aktivator, dan lain lain. Komponen ini dapat terlepas seperti pada penelitian Kostoryz EL, dkk, yang

membuktikan adanya monomer dental resin yang tidak terpolimerisasi, dapat keluar ke dalam lingkungan mulut.²⁴ Migrasi atau perpindahan dari oligomer, monomer, dan prekursor dari polimer sintetis dan molekul dengan berat rendah dapat menimbulkan reaksi negatif terhadap molekul penting biologis. Kallus; Mjor (1991) dan Hensten Pettersen; Jacobsen (1991) juga memberi penjelasan mengenai insiden dari suatu respon alergi terhadap bahan restorasi resin yang mungkin berhubungan dengan ketidaklarutan material setelah pemasangan bahan restorasi.²⁵⁻²⁷ Dari penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa Bis-GMA memiliki tingkat kelarutan rendah, sedangkan TEGDMA dilepaskan dalam jumlah yang lebih besar daripada Bis-GMA ke lingkungan kavitas oral hingga hari pertama karena memiliki berat molekul yang lebih rendah.

Contoh lain dari penyebab toksisitas sel adalah polimerisasi yang kurang sempurna akibat waktu penyinaran yang tidak sesuai. Hal ini sejalan dengan penelitian Quinlan, dkk yang menemukan bahwa apoptosis dapat terjadi pada material yang disinari terlalu lama (40 detik) dan nekrosis terjadi ketika penyinaran terlalu singkat (4 detik).^{9,28}

Beberapa kasus dermatitis kontak juga ditemukan pada beberapa klinisi kedokteran gigi akibat pajanan langsung material restorasi resin.²⁹ Dari beberapa survey yang telah dilaksanakan, banyak kasus penyakit tersebut pada beberapa dokter gigi dan asistennya.²⁶ Kanerva, dkk (1989) juga melaporkan tentang adanya dermatitis pada kulit tangan 7 individu di klinik dermatologis (6 asisten dokter gigi dan 1 dokter gigi).³⁰ Dari beberapa elemen yang diuji, ternyata terdapat 4 elemen yang menunjukkan bukti positif, yaitu Bis-GMA dan 3 elemen mengarah ke TEGDMA, yang telah diketahui sebagai 2 monomer dasar resin yang terkandung dalam material restorasi kedokteran gigi. Pada jangka waktu 2 tahun kemudian, dari penelitian pada kelompok yang sama³¹ terlihat suatu pola tertentu yang menunjukkan adanya hubungan mengenai timbulnya dermatitis kontak dengan monomer yang berasal dari bahan adhesif. Tiga tahun kemudian, kelompok yang sama menunjukkan dermatitis alergi pada ujung jari 11 orang, dan keseluruhannya adalah orang yang bekerja pada bidang

kedokteran gigi, dimana 7 orang dari subjek tersebut memiliki paresthesia pada ujung jari dan memperlihatkan adanya faringitis alergi.³² HEMA merupakan bahan dasar resin yang paling sering dilaporkan bersifat lebih sensitif dibandingkan dengan Bis-GMA (*bisphenol A diglycidyl dimethacrylate*), karena HEMA merupakan pemicu sensitifitas yang paling kuat dan bahkan ada yang menyimpulkan dengan adanya sedikit pajanan dapat menyebabkan sensitifitas. Katsuno,dkk (1995)³³ juga melaporkan adanya pruritis yang kuat, rubefaksi, indurasi, paresthesia persistent, dan diskolorasi dari ujung jari selama uji laboratorium dari bahan resin yang mengandung HEMA.

Secara mengejutkan terdapat beberapa data yang berhubungan dengan respon hipersensitifitas terhadap komponen resin komposit pada binatang eksperimental. Walle,dkk (1982) menunjukkan bahwa potensi sensitisasi dari 14 metakrilat pada hamster akan memperlihatkan berbagai respon positif.³⁴ Clemmensen (1985) juga membuktikan bahwa HEMA, meskipun memiliki efek toksik yang kecil terhadap hamster pada pemaparan konsentrasi rendah (1%), akan tetapi efek yang lebih besar akan terlihat pada binatang yang sama pada konsentrasi pemaparan yang lebih tinggi (10% dan 25%) dengan respon yang semakin meningkat setelah ditambahkan *cyclophosphamide*, sehingga menjadi dugaan bahwa HEMA juga menstimulasi penghambat dari fungsi sel.³⁵ Bjorkner,dkk (1984) dan Katsuno,dkk (1995) memperlihatkan bahwa beberapa metakrilat memiliki dosis dengan jangkauan yang luas termasuk HEMA yang dapat menginduksi sensitisasi alergi dan hipersensitifitas tipe lambat dari hamster.^{36, 37}

Forsten (1995) juga melaporkan tentang adanya 30 kasus respon alergi dari restorasi berbahan resin selama tahun 1993 hingga 1994. Dari 20 kasus, terdapat laporan mengenai dermatitis pada tangan dan jari, 4 kasus gejala alergi pada mata, 8 kasus gatal-gatal yang menyeluruh, dan 8 kasus pasien yang mengalami brokokonstriksi. Hal ini juga berhubungan dengan penelitian yang dilakukan Jensen,dkk (1991) dan Munksgaard (1992) yang melaporkan bahwa monomer resin dengan berat molekul

rendah seperti TEGDMA dapat melewati sarung tangan dalam hitungan menit, sedangkan bahan penyusun resin lainnya yang memiliki berat molekul tinggi seperti Bis-GMA dan UDMA memberikan efek yang lebih lambat.^{38, 39}

Nathanson dan Lockhart (1979) juga melaporkan suatu kasus respon alergi setelah peletakan restorasi berbahan resin pada wanita berumur 30 tahun.⁴⁰ Tanda-tanda klinis berupa eritema dan vesikulasi akan muncul beberapa jam setelah pemasangan restorasi dan akan mencapai nilai maksimum pada 24 hingga 48 jam pertama, bahkan dua hingga tiga hari setelah penambalan, pasien mengalami perkembangan ruam akut yang memiliki penampakan seperti cacar. Hal ini memberikan kesimpulan bahwa pajanan sebelumnya terhadap alergen merupakan faktor yang terpenting, di mana proses desensitisasi akan menjadi lebih sulit dan antihistamin menjadi tidak efektif dalam mengurangi reaksi hipersensitifitas. Laporan lain mengenai kecurigaan material resin sebagai faktor etiologi dari edema dan vesikulasi dari mukosa mulut dan bibir dari pasien juga diberikan oleh Niinimäki, dkk (1983).⁴¹ Selain itu, pada penelitian jauh sebelumnya juga telah dilaporkan tentang adanya reaksi *oral lichenoid* pada jaringan lunak yang berdekatan dengan restorasi komposit resin pada manusia.⁴² Hallstrom (1993) melaporkan adanya reaksi alergi yang cukup parah (termasuk bronchospasm, urtikaria keseluruhan pada tubuh, dan ruam wajah, telinga dan bibir) terhadap pengaplikasian *Pit & fissure sealant* yang mengandung TEGDMA pada anak usia 6 tahun.⁴³ Kasus-kasus lain yang memperlihatkan adanya respon alergi akibat pajanan material monomer resin terhadap dari beberapa pasien juga dilaporkan pada beberapa penelitian seperti oleh Fisher(1954)⁴⁴, Stungis & Fink(1969)⁴⁵, Rickles(1972)⁽⁴⁶⁾, dan Basker, dkk (1990)⁽⁴⁷⁾ tentang adanya respon seperti "mulut terbakar", *bronchospasm* yang memiliki kesinambungan antara peletakan material dengan perkembangan dari vesikel intra oral dan ruam kulit.

Selain itu, dengan pemaparan monomer resin (Bis-GMA, TEGDMA, dan UDMA) pada waktu 2 minggu dapat mempengaruhi

sekresi *TNF-alpha* dari monosit *THP-1*.⁴⁸ Schmalz,dkk. memperlihatkan bahwa mediator inflamasi seperti *PGE2*, *IL-6*, dan *IL-8* dilepaskan dari sel pada kultur jaringan oral manusia setelah pajanan dari berbagai dental material.⁴⁹ Akan tetapi, monomer sisa tidak menginduksi pelepasan *IL-1Beta* dari galur sel *HaCaT* dan *HGF*. Penemuan ini belum diobservasi sebelumnya dan telah diduga bahwa monomer ini tidak dapat menginisiasi inflamasi dengan melepaskan sitokin dari sel target. Monomer resin berberat molekul rendah (TEGDMA) tidak dapat memicu pelepasan *TNF-alpha* dari monosit *THP-1* dengan sendirinya, tetapi dengan menekan sekresi *TNF-alpha* yang dipicu oleh *LPS (Lipopolisaccharide)* seperti reaksi yang ditimbulkan sel terhadap antigen bakteri. Jadi dapat diberikan kesimpulan bahwa monomer resin kedokteran gigi bersifat toksik terhadap *HaCaT* keratinosit, tetapi tidak dapat menginduksi pelepasan *IL-1Beta* dari sel ini secara langsung.⁴⁸

Pada *Pit* dan *fissure sealant* kedokteran gigi, biasanya ditemukan suatu bahan BPA (*Bisphenol-A*) karena adanya sintesis dari monomer matriks seperti monomer dimetakrilat pada komposit dan *pit fissure sealant*.⁵⁰ BPA hadir sebagai hasil samping dari beberapa resin (*bisphenol A diglycidyl dimethacrylate* (bis-GMA) atau sebagai produk degradasi pada produk lainnya (seperti bis-DMA dan bis-GMA).^{8, 51, 52} Fung EY,dkk berpendapat bahwa bisphenol-A atau BPA terlepas dari dental sealant.⁵³ BPA diketahui dapat mengikat reseptor estrogen dan menyebabkan gangguan dalam metabolisme dan kesehatan alat reproduksi.⁵⁴

2.2.2. HaCaT (*Human Keratinocyte Cell Line*)

Penggunaan sel *HaCaT* sebagai sel uji karena telah diketahui bahwa pola dasar dari pemasukan monomer ke dalam tubuh adalah melalui kulit, mukosa oral atau mukosa gastrointestinal.⁵⁵

HaCaT merupakan galur sel yang berasal epitel kulit manusia dan ditransformasikan dari sel kulit matang, yang mencerminkan kapasitas diferensiasi dari epidermal utuh. *HaCaT* ini tergolong *immortal* (> 140

pemisahan) serta memiliki fenotip yang ditransformasikan secara *in vitro* tetapi tidak tumorigenic.

HaCaT diperoleh dari isolasi kulit manusia melalui eksisi pembedahan. Isolasi sel dilakukan dengan pemisahan jaringan kulit dari lemak dan dermis. Berbagai metode untuk memisahkan sel epidermal manusia secara *in vitro* telah dilaporkan dalam beberapa tahun, secara umum menggunakan sel 3T3 (sel fibroblast) yang diradiasi sebagai *feeder layer*⁵⁶ atau kondisi kultur yang dimodifikasi.⁵⁷⁻⁵⁹ Hasil dari kultur sekunder diberi kode *HaCaT* untuk menyatakan bahwa sel ini berasal dari sel keratinosit manusia yang dikembangkan pada kondisi temperatur yang meningkat serta Ca^{2+} rendah.⁶⁰

Galur sel *HaCaT* yang telah melalui pemisahan 80 kali atau lebih, memperlihatkan pengaruh yang mirip dari suprabasal keratin sebagai respon terhadap kekurangan vitamin A pada medium kultur. Hal ini menggambarkan bahwa sifat galur sel *HaCaT* mendekati sifat dari keratinosit normal dan dapat dijadikan model untuk mempelajari mekanisme dari proses diferensiasi sel epidermal manusia.⁶¹

2.2.3. Viabilitas Sel

Viabilitas sel perlu dipertahankan bila sel dipindahkan dari lingkungan *in vivo* ke lingkungan *in vitro*. Viabilitas sel adalah kemampuan sel untuk dapat bertahan hidup dengan menunjukkan respon sel secara jangka pendek, misalnya seperti perubahan permeabilitas membran atau gangguan pada jalur metabolisme tertentu, kemampuan sel untuk bertahan dari proses apoptosis dan nekrosis yang dipicu oleh pemaparan suatu agen. Oleh karena itu, penurunan viabilitas sel dapat menjadi tanda sitotoksitas suatu bahan.¹⁷ Terdapat tiga tipe dari kematian sel, yang pertama adalah apoptosis, yaitu sel akan mati karena terprogram dan sesuai waktunya; lalu tipe kedua adalah autofag, yaitu kemampuan sel untuk bertahan atau mati; dan tipe ketiga adalah Nekrosis, yaitu kematian sel secara tiba tiba dan tidak sesuai waktunya.

Tabel 1. Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis

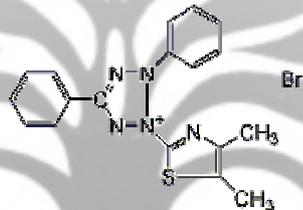
	Apoptosis	Nekrosis
DNA	<i>Internucleosomal cleavage</i> (seperti tangga/efek domino)	Degradasi secara acak
Nukleus	<i>Chromatin margination</i>	<i>Pyknosis</i> (Penyusutan nukleus)
Mitokondria	Dapat terlihat normal/ mungkin terfragmentasi	Membengkak, Ca ²⁺ Meningkat
Inflamasi	Tidak terjadi	Terjadi
Pattern	Individual sel yang terpengaruh	Ganda
Volume Sel	Berkurang	Bertambah pada awalnya
Cell fragmentation	Terjadi (<i>apoptotic bodies</i>)	Tidak terjadi (lisis sel terjadi)

Nekrosis dapat disebabkan oleh deplesi energi akut, seperti iskemia, overaktivasi dari reseptor glutamat, hipoglikemia, trauma, lingkungan ekstrim (seperti asam, panas atau dingin ekstrim), kerusakan DNA meluas, atau akumulasi berlebihan dari ROS (*reactive oxidative species*). Nekrosis dimulai dari pembengkakan sel, pencernaan kromatin, disrupsi dari membran plasma, hingga pemecahan organel dan lisis sel. Pelepasan material intrasel setelah rupturnya membran plasma merupakan sebab dari inflamasi pada nekrosis. Penyebab nekrosis bermacam-macam, termasuk pemaparan yang terus menerus dari infeksi, kanker, infark, racun, dan inflamasi, sedangkan apoptosis diperantarai pelepasan enzim oleh lisosom yang menyebabkan terjadinya efek domino untuk melakukan lisis membran sel.⁶²

Toksisitas merupakan peristiwa kompleks secara *in vivo* di mana banyak sekali kehancuran sel secara langsung, efek fisiologis, dan juga efeknya terhadap sel pada tempat lain serta efek sistemiknya. Pada saat ini, masih sulit untuk melihat efek sistemik dan fisiologis secara *in vitro*, jadi setiap pengujian melihat efek toksik dari tahap selular, yaitu sitotoksisitas. Sitotoksisitas biasa dilihat secara *in vitro* dengan *cytotoxic assay* dari aspek yang mempengaruhi perkembangan sel dan kemampuan untuk bertahan hidup. Perkembangan sel dapat terlihat dari banyaknya kemampuan regeneratif dari sel seperti yang terlihat dari tes perkembangan klonal, perubahan ukuran populasi, atau perubahan massa

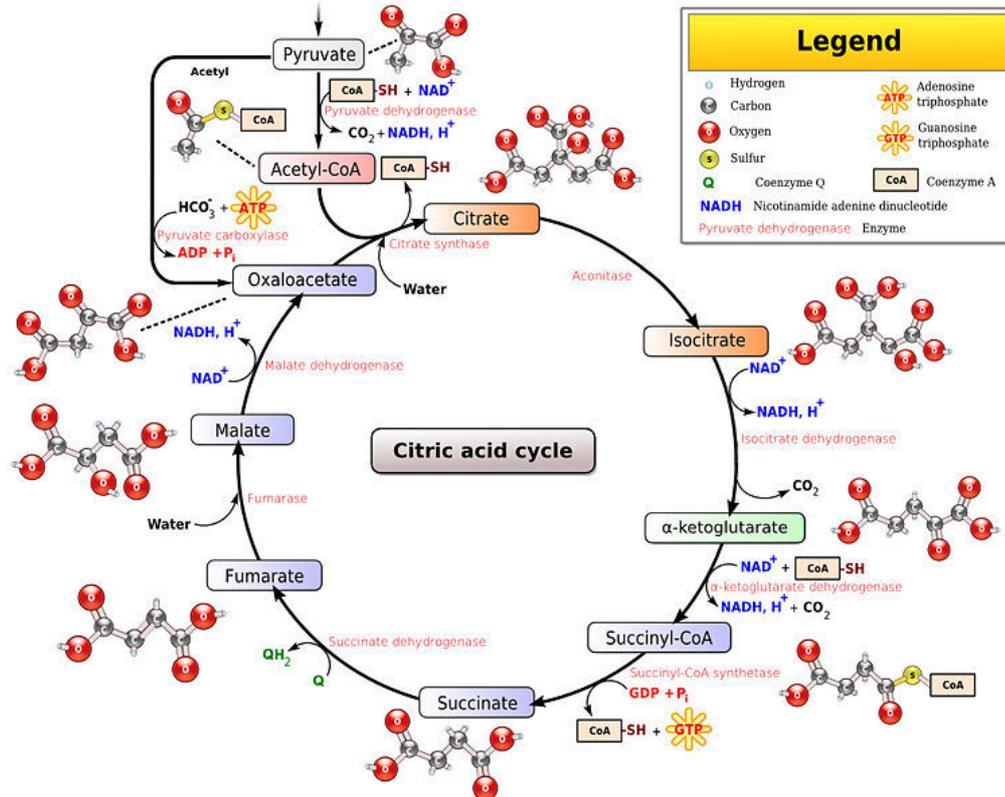
protein (protein total atau DNA) atau aktifitas metabolik (misalnya, DNA, RNA, atau sintesis protein, reduksi MTT).¹⁷

Uji sitotoksitas juga dapat dilakukan dengan metode *scanning electron microscopy* (SEM), enzim *assay* dan *cytokine expression*. Sitotoksitas umumnya ditandai dengan adanya penurunan proliferasi sel, viabilitas sel, sintesis asam nukleat atau protein. Salah satu tes sitotoksitas yang sering digunakan untuk menguji viabilitas sel adalah 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) *assay*.^{17, 63} MTT *assay* pertama kali dikenalkan oleh Mosmann pada tahun 1983. MTT merupakan bahan kimia yang berwarna kuning dan dapat larut dalam air.⁶⁴ Struktur kimia MTT dapat dilihat pada gambar 4.

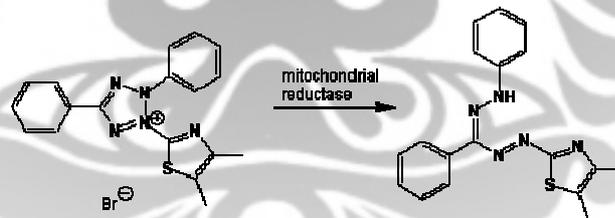


Gambar 4. Struktur MTT.

Prinsip dasar *MTT assay* adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan aktivitas *succinic dehydrogenase* mitokondria sel untuk mereduksi garam *methylthiazol tetrazolium* (MTT). Pada proses metabolisme yang terlihat dalam gambar 5, sel-sel yang hidup akan menghasilkan *succinic dehydrogenase* mitokondria. *Succinate-coenzyme Q reductase* (*succinate dehydrogenase*) merupakan ikatan kompleks enzim yang mengikat membran mitokondria serta berperan dalam siklus asam sitrat dan rantai transport elektron pada mitokondria (biasa disebut Complex II) dan merupakan satu-satunya enzim yang berikatan dengan membran pada siklus asam sitrat yang ditemukan pada organisme aerob dan anaerob.⁶⁵ Enzim ini akan bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan ungu yang jumlahnya sebanding dengan aktivitas sel yang hidup, dengan reaksi seperti pada gambar 6.



Gambar 5. Peran Succinic Dehydrogenase pada rantai siklus krebs



Gambar 6. Pembentukan kristal Formazan ungu

Kristal formazan ungu bersifat impermeabel pada membran sel dan tidak larut dalam air. Oleh karena itu, diperlukan pelarut tambahan seperti *isopropanol*, *dimethyl sulfoxide* (DMSO) atau larutan deterjen *sodium dodecyl sulfate* (SDS) yang diencerkan dalam asam hidroklorida (HCl) untuk melarutkan kristal formazan ungu.⁶⁶ Penyerapan maksimal dari kristal formazan tergantung dari pelarut yang digunakan. Reduksi terjadi ketika enzim reduktase mitokondrianya aktif dan perubahan itu dapat langsung kita ketahui dari hubungannya dengan jumlah sel yang

hidup. Ketika jumlah dari formazan yang diproduksi sel dipaparkan dengan suatu agen kemudian dibandingkan dengan jumlah formazan yang diproduksi oleh sel kontrol yang tidak terpapar, maka akan dapat kita ketahui nilai viabilitas sel.¹⁷ Nilai absorbansi (OD) dari kristal formazan yang telah dilarutkan dapat diukur menggunakan *Microplate reader* ($\lambda = 470-655 \text{ nm}$). Selanjutnya, viabilitas dinyatakan dengan membandingkan nilai absorbansi kelompok perlakuan yang dipaparkan bahan uji dengan kelompok kontrol (sample tanpa bahan uji) menggunakan rumus dari *In Vitro Technologies* sebagai berikut :

$$\text{Viabilitas Sel (\% dari Kontrol)} = \frac{\text{Nilai absorbansi kelompok Perlakuan}}{\text{Nilai absorbansi kelompok Kontrol}}$$

Jika presentasi viabilitas sel lebih kecil dari 100%, maka material yang dipaparkan pada sel tersebut dapat dikatakan bersifat toksik.^{17, 63}

2.3. Kelarutan dalam air (*Water Solubility*)

Keadaan lingkungan kavitas mulut dapat mempengaruhi sifat bahan restorasi gigi. Terutama keadaan kandungan air yang hadir di saliva, di mana air yang diserap oleh matriks polimer dapat menyebabkan pelepasan ikatan antara matriks-*filler* atau bahkan degradasi hidrolitik dari *filler*. Air dapat terjebak selama polimerisasi di dalam mikrogel di antara rantai polimer. Selain itu, air bisa saja menempel di sekitar rantai ikatan silang atau kemungkinan lain yaitu terjebak di dalam mikroporus.⁶⁷ Masuknya air dipengaruhi oleh kepadatan dari rantai polimer dan potensi ikatan hidrogen dan interaksi polar. Tingkat degradasi tergantung dari fungsi kompleks dari karakteristik fisik dan kimia dari resin, *filler*, dan *coupling agent*.

Penelitian kelarutan pertama menggunakan air sebagai pelarut oleh Oysaed,dkk (1988), yang menemukan bahwa degradasi dari komposit resin pada air memberikan peningkatan formasi dan pelepasan dari formaldehid yang terdeteksi dengan menggunakan metode HPLC.⁶⁸ Selain itu jenis monomer terlarut yang dapat teridentifikasi melalui metode ini adalah komonomer TEGDMA dan monomer dasar lainnya misalnya Bis-GMA dan UDMA.^{69, 70}

Komponen lain dari material berbahan resin yang dapat larut, adalah *filler*, *aktivator*, *inhibitor* polimerisasi, dan berbagai produk degradasi lainnya seperti formaldehid dan asam metakrilat.

Air merupakan gugus polar karena oksigen dari air memiliki sifat menarik elektron. Unsur Hidrogen tersier pada air dapat menjadi permulaan degradasi, sedangkan unsur oksigen dapat meningkatkan degradasi matriks resin. Matriks dari resin bersifat hidrofilik (memiliki afinitas tinggi terhadap gugus H₂O), dan tidak bereaksi terhadap substansi lain selain air. Pada proses kelarutan, monomer yang tidak terikat dan atau bahan tambahan lainnya akan dilarutkan oleh pelarut atau melalui mekanisme degradasi polimer selama jam pertama setelah polimerisasi dimulai. Jumlah kelarutan jangka pendek dari monomer bebas sangat ditentukan pada saat terjadinya polimerisasi yaitu pada saat proses perubahan monomer menjadi rantai polimer. Air dan pelarut lain masuk ke dalam polimer dan menyebabkan pelepasan dari produk biodegradasi yang dinamakan oligomer dan monomer. Bentuk dari erosi ini menyebabkan berkurangnya berat dari polimer. Pelunakkan matriks juga mempermudah pelarut untuk masuk dan memperluas jaringan polimer, sehingga memfasilitasi difusi jangka panjang dari monomer tak terikat.⁷¹⁻⁷³

Derajat dalam polimerisasi sangat mempengaruhi degradasi dari material matriks dari resin. Peningkatan derajat penyinaran (intensitas dan waktu penyinaran) dapat mempengaruhi tingkat degradasi pada permukaan *filler* dengan meningkatkan kepadatan ikatan silang matriks resin. Peningkatan derajat ikatan silang matriks resin dapat menyebabkan penurunan tingkat difusi dari material matriks sehingga memperlambat kecepatan reaksi pada permukaan *filler* dan memproduksi silane-resin yang lebih efisien karena terbentuknya ikatan *filler*-resin yang lebih baik.⁷⁴

Ketika komponen keluar ke lingkungan cair, molekul cairan berdifusi ke dalam resin. Selama proses ini, matriks menahan molekul cairan pada jaring ikatan resin. Karena molekul cairan memiliki ukuran tertentu, maka ia akan membentuk suatu jarak antara rantai polimer. Peningkatan jarak antar rantai polimer menghasilkan interaksi polar yang lebih lemah di antara rantai terpisah, yang menghasilkan matriks lebih lunak. Ada teori lain yang menjelaskan tentang

adanya interaksi antara *filler* dan matriks yang menjadi jalur penetrasi air. Air memiliki pengaruh dalam melunakkan resin dengan masuk ke matriks, kemudian memicu keluarnya monomer yang tidak terikat dan degradasi dari *filler* serta substansi lain.

Ada beberapa teori berpendapat bahwa reaksi kimia lebih berpengaruh pada matriks dibandingkan pada partikel filler, karena partikel filler tidak mendominasi proses tersebut. Mekanisme lain yang memungkinkan untuk menyebabkan terjadinya degradasi adalah reaksi kimia hidrolisis dan pemecahan enzymatic dari polimer.⁷⁵ Degradasi menurut Gopferich, adalah proses pemutusan rantai pada saat rantai polimer terpecah untuk membentuk oligomer hingga monomer pada akhirnya. Gopferich menjelaskan bahwa intrusi air menuju rantai polimer akan mengaktifkan degradasi kimia polimer, yang menghasilkan oligomer dan monomer.⁷⁶ Terdapat 2 mekanisme dasar dari degradasi polimer; secara pasif melalui mekanisme hidrolisis, atau secara aktif dengan mekanisme reaksi enzimatik.⁷⁷ Mekanisme degradasi hidrolitik dapat dijelaskan dengan reaksi otokatalisis dari air terdestilasi. Karena sifat polar dari air dan adanya peranan silikon dari material, atom oksigen dari air berikatan dengan atom silikon. Menurut teori reaksi autokatalisis dari air terdestilasi, reaksi pada ikatan *siloxane* oleh ion *hydroxyl* menyebabkan degradasi hidrolitik dari permukaan filler dengan air. Selain itu, kelarutan dalam air juga dapat dijelaskan dengan teori degradasi fisik, yaitu pelarut masuk ke dalam matriks dan memperbesar jarak antara rantai polimer, sehingga substansi yang dapat larut seperti monomer tidak bereaksi dapat berdifusi.⁷⁵ Jaringan polimer terdegradasi sehingga menghasilkan molekul kecil melalui oksidasi, reaksi dengan kelompok fungsional, dan pemutusan rantai. Beberapa penelitian menunjukkan metakrilat dapat mengalami reaksi degradasi sehingga menghasilkan formaldehid melalui oksidasi, serta asam metakrilat dan molekul lain, di mana rantai dialkohol terlepas setelah pemecahan asam metakrilat dari Bis-GMA melalui hidrolisis dan esterifikasi.⁷³

Berbagai macam reaksi esterase telah diteliti dapat terjadi pada saliva yang menyebabkan esterifikasi dari metakrilat. Bentuk dari pengaruh enzimatis terhadap degradasi misalnya interaksi antara monomer resin dengan esterase yang dihasilkan oleh saliva manusia dan *pseudocholinesterase* yang terjadi pada kavitas

oral yang berkontribusi terhadap degradasi resin. Selain itu, degradasi enzimatik dapat disebabkan juga oleh tingkat polimerisasi resin, karena kelompok ester mungkin lebih mudah bereaksi ketika jaringan ikatan silang yang longgar. Selain itu, komposisi monomer penyusun jaringan merupakan hal yang paling menentukan tingkat degradasi, khususnya ketika enzim ikut berperan, misalnya TEGDMA lebih mudah mengalami hidrolisis enzimatik dibandingkan Bis-GMA karena rantai yang dimiliki TEGDMA lebih pendek dari Bis-GMA.⁷⁸

Terdapat beberapa faktor penting lainnya yang mempengaruhi degradasi polimer: tipe ikatan kimia antara polimer, pH dari medium perendaman, komposisi kopolimer dan jumlah air yang masuk.^{76, 79} Kelarutan air berhubungan dengan penyerapan air itu sendiri, misalnya karena material tersebut memiliki komponen yang memiliki kelarutan tinggi sehingga larut dengan laju yang cepat dan meninggalkan celah yang memudahkan cairan dari lingkungan sekitarnya dapat masuk ke dalamnya.⁸⁰

Penyerapan dan kelarutan cairan ke dalam resin memiliki keuntungan dan konsekuensi yang merusak. Perubahan dimensi yang disebabkan oleh penyerapan air dapat mengkompensasi kontraksi polimerisasi yang dini. Ekspansi higroskopik dapat menurunkan pengerutan akibat polimerisasi.⁸¹ Akan tetapi banyak kerugian yang diberikan karena penyerapan air ini. Misalnya saja peregangan antar rantai matriks dapat memperlemah ikatan antar monomer, serta air yang masuk dapat menjebak monomer yang tidak bereaksi dan melarutkannya ke lingkungan cair.

2.4. Kerangka Teori

