

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

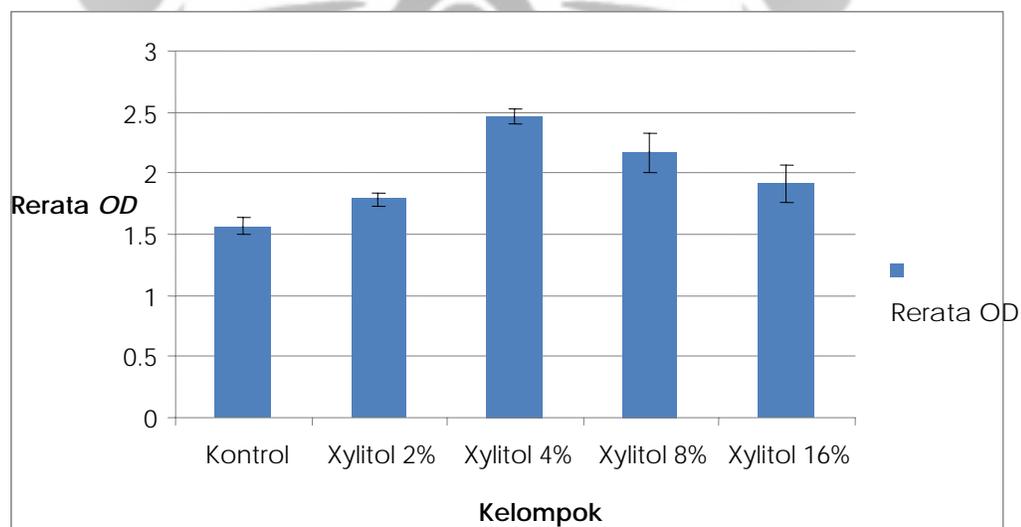
Pada penelitian ini viabilitas sel diperoleh dari rerata *optical density* (OD) MTT assay dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Viabilitas sel (\%)} = (\text{OD perlakuan} / \text{OD kontrol}) \times 100\%$$

Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 5.1 dan gambar 5.1 di bawah ini :

**Tabel 5.1** Rerata *Optical Density* (OD) dan Viabilitas Sel-sel Pulpa Gigi Setelah Pemaparan Xylitol pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

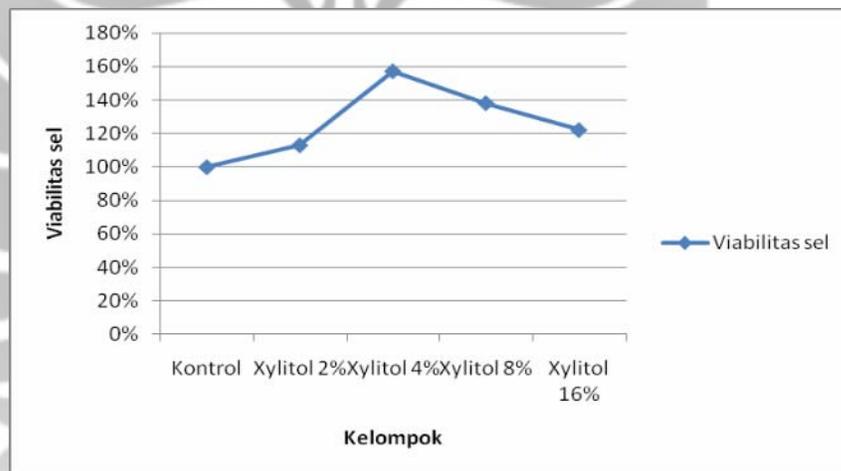
Kelompok	N	Rerata OD $\pm$ SD	Viabilitas sel
Kontrol	4	1,566 $\pm$ 0,069	100 %
Xylitol 2 %	9	1,784 $\pm$ 0,052	113,92 %
Xylitol 4 %	6	2,465 $\pm$ 0,057	157,40 %
Xylitol 8 %	4	2,168 $\pm$ 0,162	138,44 %
Xylitol 16 %	3	1,912 $\pm$ 0,148	122,09 %



**Gambar 5.1** Diagram Batang Rerata *Optical Density* (OD) Sel-sel Pulpa Gigi Setelah Pemaparan Xylitol pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Berdasarkan tabel 5.1, dapat dilihat bahwa rerata *optical density* kelompok xylitol 2% ( $1,784 \pm 0,052$ ), 4% ( $2,465 \pm 0,057$ ), 8% ( $2,168 \pm 0,162$ ), dan 16% ( $1,912 \pm 0,148$ ) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $1,566 \pm 0,069$ ). Nilai rerata kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tersebut di atas digambarkan dalam bentuk diagram batang pada gambar 5.1.

Dari nilai *optical density* itu diperoleh persentase viabilitas sel. Viabilitas kelompok xylitol 2%, 4%, 8%, dan 16% berturut-turut adalah 113,92%, 157,40%, 138,44%, dan 122,09%. Terdapat peningkatan viabilitas sel pada kelompok perlakuan bila dibandingkan dengan viabilitas sel pada kelompok kontrol, yaitu 100%. Peningkatan mencapai maksimum pada kelompok xylitol 4%. Gambaran peningkatan viabilitas sel dapat dilihat pada gambar 5.2.



**Gambar 5.2** Grafik Viabilitas Sel-sel Pulpa Gigi Setelah Pemaparan Xylitol pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Data hasil penelitian mempunyai distribusi normal dan bersifat homogen. Sebelumnya telah dilakukan uji normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas data yang digunakan adalah *Shapiro-Wilk* karena sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kurang dari lima puluh.

Untuk mengetahui signifikansi perbedaan rerata *optical density*, dilakukan uji *Oneway ANOVA* yang membandingkan dua variabel yang tidak berhubungan. Hasil uji *Oneway ANOVA* dapat dilihat pada tabel 5.2

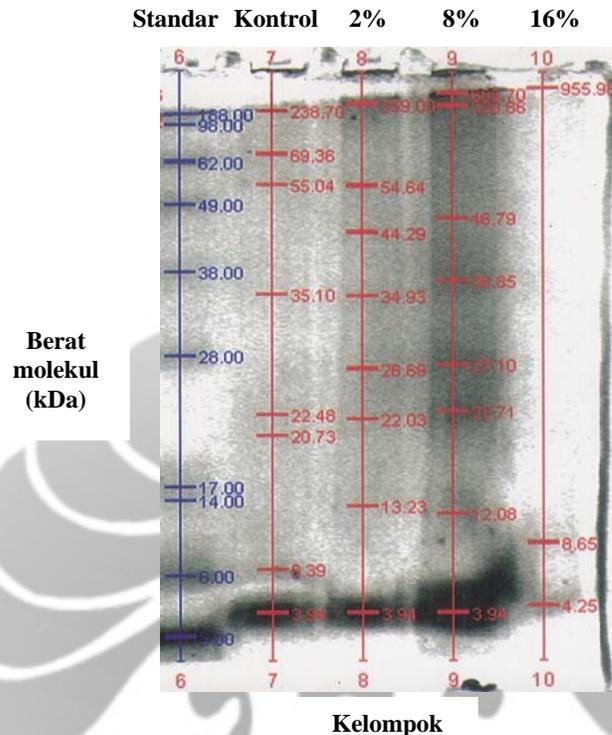
**Tabel 5.2** Hasil Uji *Oneway* ANOVA Rerata *Optical Density* Antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan serta Antar Kelompok Perlakuan

<b>Kelompok</b>	<b>Rerata OD ± SD</b>	<b>Sig</b>
Kontrol	1,566 ± 0,069	0,001*
Xylitol 2%	1,784 ± 0,052	
Kontrol	1,566 ± 0,069	0,000*
Xylitol 4%	2,465 ± 0,057	
Kontrol	1,566 ± 0,069	0,000*
Xylitol 8%	2,168 ± 0,162	
Kontrol	1,566 ± 0,069	0,000*
Xylitol 16%	1,912 ± 0,148	
Xylitol 2%	1,784 ± 0,052	0,000*
Xylitol 4%	2,465 ± 0,057	
Xylitol 2%	1,784 ± 0,052	0,000*
Xylitol 8%	2,168 ± 0,162	
Xylitol 2%	1,784 ± 0,052	0,048*
Xylitol 16%	1,912 ± 0,148	
Xylitol 4%	2,465 ± 0,057	0,000*
Xylitol 8%	2,168 ± 0,162	
Xylitol 4%	2,465 ± 0,057	0,000*
Xylitol 16%	1,912 ± 0,148	
Xylitol 8%	2,168 ± 0,162	0,001*
Xylitol 16%	1,912 ± 0,148	

\*Perbedaan bermakna antar kelompok yang diperbandingkan ( $p < 0,05$ )

Tabel di atas memperlihatkan perbedaan yang bermakna di antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dan antar kelompok perlakuan. Viabilitas sel kelompok xylitol 2% (113,92%) lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan secara statistik perbedaan tersebut bermakna ( $p < 0,05$ ). Viabilitas sel kelompok xylitol 4% (157,40%) lebih tinggi daripada kelompok kontrol dan secara statistik perbedaan tersebut bermakna ( $p < 0,05$ ). Demikian juga dengan kelompok xylitol 8% (138,44%) dan 16% (122,09%) yang masing-masing memiliki viabilitas sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan secara statistik perbedaan tersebut bermakna ( $p < 0,05$ ).

Oleh karena itu, hipotesis pertama yang menyatakan xylitol dapat meningkatkan viabilitas sel-sel pulpa gigi diterima.



**Gambar 5.3.** Gambaran Profil Protein Sel Pulpa Setelah Pemaparan Xylitol dengan Menggunakan Metode SDS PAGE

Untuk mengetahui profil protein sel, dilakukan analisis profil protein dengan menggunakan metode SDS PAGE. Setelah *double staining*, hasilnya diamati melalui *Gel Doc* dengan tampilan *line-line* seperti gambar di atas. *Line 6* menunjukkan standar *See BluePlus2*, sedangkan *line 7, 8, 9, dan 10* berturut-turut menunjukkan sampel sel yang diambil dari kelompok kontrol, xylitol 2%, xylitol 8%, dan xylitol 16%.

Tiap-tiap *line* memperlihatkan tampilan *band-band* protein yang berbeda. *Band-band* protein kelompok xylitol 2% terlihat lebih tebal jika dibandingkan dengan *band-band* protein kelompok kontrol. *Band-band* protein kelompok xylitol 8% terlihat lebih tebal jika dibandingkan dengan *band-band* kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan lainnya. *Band* protein pada pada kelompok xylitol 16% tidak banyak terlihat. Hal ini menunjukkan tidak terdeteksinya

protein-protein pada kelompok xylitol 16%. Nilai berat molekul protein yang muncul pada tiap *band* mengacu pada nilai protein standard (*See BluePlus2*) sebagai tolak ukurnya. Protein baru terbentuk pada berat molekul 44,29 kDa dan 46,79 kDa yang masing-masing tampak sebagai *band* ke tiga pada kelompok xylitol 2% dan 8%, berat molekul 26,69 kDa dan 27,10 kDa yang masing-masing tampak sebagai *band* ke lima pada kelompok xylitol 2% dan 8%, serta berat molekul 13,23 kDa dan 12,08 kDa yang masing-masing tampak sebagai *band* ke tujuh pada kelompok xylitol 2% dan 8%. *Band-band* protein tersebut tidak terlihat pada kelompok kontrol. Dari hasil pengamatan tersebut maka hipotesis kedua yang menyatakan bahwa xylitol dapat mempengaruhi profil protein total sel dapat diterima.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek xylitol terhadap sel-sel pulpa gigi ditentukan berdasarkan viabilitas sel dan profil protein sel pulpa. Pada penelitian ini, nilai rerata *optical density* (OD) dari *MTT assay* pada kelompok xylitol 2%, 4%, 8%, dan 16% lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Peningkatan rerata OD sejalan dengan peningkatan persentase viabilitas sel. Persentase viabilitas sel pada semua kelompok perlakuan berbeda signifikan dibanding kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ).

Peningkatan viabilitas sel pada kelompok perlakuan mencapai maksimum pada konsentrasi 4%. Persentase viabilitas sel kelompok xylitol 8% dan 16% tidak setinggi kelompok xylitol 4%. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan masalah fisiologis. Xylitol pada konsentrasi yang berlebih diduga bersifat toksik. Sifat toksik tersebut menghambat aktivitas proliferasi sel.

Peningkatan viabilitas sel atau jumlah sel yang hidup diduga akibat meningkatnya aktivitas proliferasi sel.<sup>36</sup> Proliferasi sel dapat diinduksi oleh paparan suatu agen. Di dalam sel terdapat sinyal-sinyal yang mampu menginduksi proliferasi sel. Barron dkk melaporkan bahwa sel normal akan menerima dan memproses sejumlah *growth-stimulatory signal*, terutama yang dibawa oleh *growth factor*, kemudian menilainya apakah cukup kuat untuk membuat sel berproliferasi.<sup>37</sup> Kyriakis dkk melaporkan bahwa jalur transduksi sinyal dapat diaktivasi oleh stres lingkungan, termasuk benda asing.<sup>37</sup> Diduga xylitol sebagai agen yang dapat mengintervensi sel pulpa dan mengaktivasi jalur transduksi sinyal. Doiron dkk melaporkan bahwa *pentose phosphate pathway* dipengaruhi oleh xylitol.<sup>38</sup>

Proliferasi sel pulpa menandai adanya aktivasi protein akibat pengaruh sejumlah faktor seperti hormon dan *growth factor*.<sup>37</sup> *Growth factor* mengikat reseptor pada permukaan sel yang menghubungkannya dengan *signaling molecules*. *Molecular signal* diterima melalui interaksi antara *signaling molecules* (ligand) dan reseptor spesifik di permukaan sel. Secara bertahap, pesan dari

sinyal-sinyal tersebut ditransmisikan dan akan mengaktivasi faktor transkripsi spesifik di nukleus. Setelah itu akan terjadi sintesis protein yang menyebabkan sel melanjutkan proses pembelahannya.<sup>39</sup>

Analisis profil protein yang dilakukan menggunakan metode SDS PAGE dengan pewarnaan *double staining*. *Coomassie blue staining* merupakan pewarnaan yang umum digunakan untuk mewarnai gel hasil elektroforesis, tetapi gambaran *band-band* protein yang dihasilkan tampak kurang jelas. Untuk memperjelas *band-band* protein tersebut digunakan pewarnaan *Silver staining* yang memiliki sensitivitas 50 hingga 100 kali lipat dibanding *Coomassie blue staining*.<sup>32,40</sup> Dengan *Silver staining*, *band-band* protein yang memiliki berat molekul rendah terlihat lebih jelas.

Dari hasil gambaran *band-band* protein (gambar 5.3), terlihat adanya perbedaan profil protein sel antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Protein baru ditemukan pada kelompok perlakuan, namun tidak ditemukan pada kelompok kontrol. Protein baru terdeteksi menyerupai protein dengan berat molekul 44,29 kDa dan 46,79 kDa yang masing-masing tampak sebagai *band* ke tiga pada kelompok xylitol 2% dan 8%. Protein dengan berat molekul 26,69 kDa dan 27,10 kDa yang masing-masing tampak sebagai *band* ke lima pada kelompok xylitol 2% dan 8% juga dideteksi sebagai protein baru. Begitu pula dengan protein yang memiliki berat molekul 13,23 kDa dan 12,08 kDa yang masing-masing tampak sebagai *band* ke tujuh pada kelompok xylitol 2% dan 8%. Pada kelompok 16% tidak ditemukan *band-band* protein yang jelas. Hal ini diduga disebabkan oleh degradasi protein. Degradasi protein dapat terjadi sebagai respon protein terhadap zat kimia. Nampaknya dibutuhkan *marker antibody* spesifik untuk mendeteksi *band-band* protein yang terbentuk pada kelompok xylitol 16%.

*Band* protein dengan berat molekul 44 kDa yang terdapat pada kelompok xylitol 2% dan 8% diduga merupakan protein *Mitogen-activated Protein (MAP) Kinase*. Dugaan tersebut ditunjang oleh penelitian Kawata dkk yang melaporkan bahwa MAP kinase berperan dalam proliferasi sel.<sup>41</sup> Enzim tersebut merespon benda asing berupa zat kimia dan tekanan mekanis sebagai upaya mengontrol kehidupan sel.<sup>41</sup> Frodin dkk melaporkan bahwa MAP kinase dapat diaktivasi oleh glukosa yang diinduksi oleh sekresi insulin, dengan dibantu oleh ion  $Ca^{2+}$ .<sup>41</sup>

Aktivasi MAP kinase dapat diukur dengan metode *immunoprecipitation kinase assay*.<sup>42</sup> Dalam penelitian ini, xylitol diduga melakukan hal yang serupa dengan glukosa. Xylitol sebagai benda asing berupa zat kimia dapat menjadi sumber energi bagi sel untuk melakukan aktivitas proliferasi. Dengan demikian terjadi peningkatan viabilitas sel.

*Band* protein dengan berat molekul 26 kDa yang terdapat pada kelompok xylitol 2% dan 8% diduga merupakan *26 kDa protein* yang juga sering disebut sebagai *IL1-inducible 26k factor*. Faktor ini dideteksi sebagai faktor yang menginduksi fibroblast manusia yang juga banyak terdapat di dalam pulpa gigi.<sup>43</sup>

*Band* protein dengan berat molekul 27 kDa yang terdapat pada kelompok xylitol 2% dan 8% diduga merupakan *Heat Shock Protein 27*. Protein ini dilaporkan memiliki efek antiapoptotik. Whitlock dkk melaporkan bahwa peningkatan Hsp27 dapat memproteksi sel dari apoptosis yang bergantung *cytochrome c*. dan yang diperantarai *caspase*.<sup>44</sup>

Sedangkan *band* protein dengan berat molekul 12 kDa dan 13 kDa yang terdapat pada kelompok xylitol 2% dan 8% diduga merupakan FKBP12 (FK506-binding protein 12 kDa) dan FKBP13 (FK506-binding protein 13 kDa). Protein-protein ini berperan dalam sistem imun, antara lain dengan mengaktivasi sel T dan mencegah apoptosis sel-sel saraf.<sup>45,46</sup>

Dalam penelitian ini, xylitol terbukti memiliki efek meningkatkan viabilitas sel-sel pulpa gigi manusia dan mempengaruhi profil protein dalam sel. Akan tetapi, mekanisme kerja xylitol dalam menimbulkan efek tersebut masih memerlukan penelitian lanjut. Demikian pula berbagai jenis protein baru yang terbentuk masih perlu penelitian lebih lanjut dengan menggunakan antibodi yang spesifik terhadap protein-protein yang diduga merupakan produk sel pulpa.