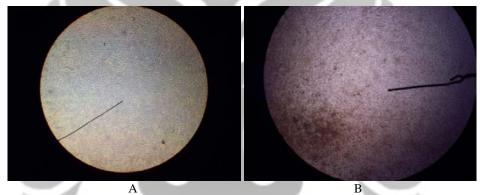
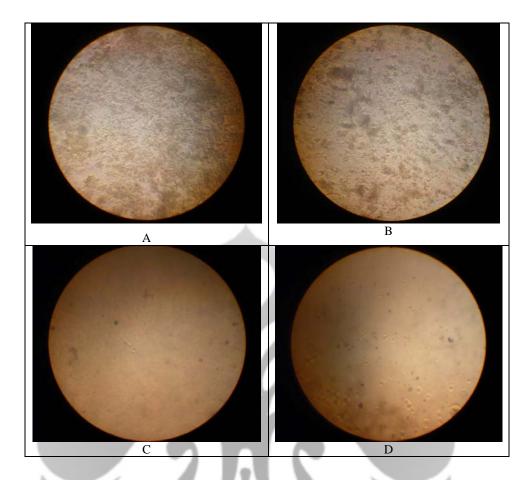
## BAB 5 HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini sel pulpa yang digunakan berasal dari kultur primer jaringan pulpa gigi sehat yang dibiakkan hingga sel *confluent* ( $\pm$  2-3 malam) dalam petri dish. Kemudian kultur sel tersebut disubkultur ke dalam 24-wellplate dengan jumlah sel  $2x10^5$  sel pada tiap well selama 24 jam, yang selanjutnya menjadi sampel dalam penelitian ini. Gambaran mikroskopis kultur sel primer dan subkultur sel-sel pulpa gigi terlihat pada Gambar 5.1.



**Gambar 5.1.** Gambaran mikroskopis kultur sel-sel pulpa gigi dengan pembesaran 4X (0.10), pemotretan menggunakan *digital camera* Kodak M853, sel tampak *confluent* **A.** kultur primer sel-sel pulpa gigi pada cawan petri setelah inkubasi  $\pm$  2 malam **B.** subkultur sel pulpa gigi pada 24-well plate setelah inkubasi 1 malam.

Tahap berikutnya kultur sel-sel pulpa tersebut dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol (tanpa pemaparan TEGDMA) dan kelompok perlakuan dengan pemaparan TEGDMA konsentrasi 4 mM, 8mM dan 12 mM selama 24 jam. Gambaran mikroskopis kelompok kontrol dan perlakuan terlihat pada gambar 5.2.A-D.



**Gambar 5.2.** Gambaran mikroskopis kultur sel-sel pulpa gigi setelah pemaparan TEGDMA dan diinkubasi pada kondisi suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam dengan pembesaran 4X (0.10), pemotretan menggunakan *digital camera* Kodak M853. **A.** Kelompok kontrol **B.** Kelompok perlakuan TEGDMA 4 mM **C.** Kelompok perlakuan TEGDMA 8 mM **D.** Kelompok perlakuan TEGDMA 12 mM.

Gambar 5.2. B-D memperlihatkan gambaran mikroskopis kultur sel-sel pulpa setelah pemaparan TEGDMA selama 24 jam. Pada gambar tersebut terlihat penurunan kepadatan sel pada kelompok perlakuan seiring peningkatan konsentrasi pemaparan TEGDMA dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 5.2. A).

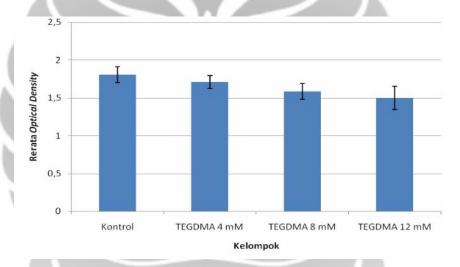
Pada penelitian ini efek TEGDMA ditentukan berdasarkan viabilitas dan profil protein sel-sel pulpa gigi. Viabilitas sel diukur dengan metode *MTT assay*. Hasil *MTT assay* dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 490 nm menghasilkan nilai *optical density* (OD). Kemudian viabilitas sel dinyatakan dalam presentase yang merupakan hasil perbandingan nilai rerata OD kelompok

perlakuan dengan kelompok kontrol. Nilai rerata OD dan diagram rerata OD terlihat pada tabel 5.1 dan gambar 5.3.

**Tabel 5.1** Rerata *Optical Density* (OD) dan presentase (%) viabilitas sel-sel pulpa gigi setelah pemaparan TEGDMA

	N	Rerata Optical Density	Viabilitas sel	
	11	$(\overline{\mathbf{x}}\mathbf{O}\mathbf{D}) \pm \mathbf{S}\mathbf{D}$	v iabilitas sei	
Kontrol	6	$1,81 \pm 0,11$	100%	
TEDGMA 4 mM	6	$1,71 \pm 0,08$	94,5%	
TEGDMA 8 mM*	6	$1,59 \pm 0,11$	87,8%	
TEGDMA 12 mM*	6	$1,50 \pm 0,16$	83%	

Tanda \*: menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan TEGDMA dan kelompok kontrol (p<0,05)

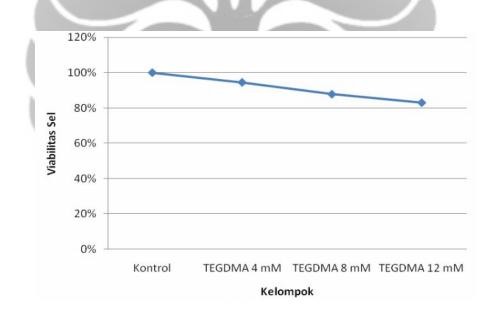


**Gambar 5.3** Diagram nilai rerata *optical density* sel pulpa gigi kelompok kontrol dan perlakuan setelah pemaparan TEGDMA

Uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* menyatakan bahwa data mempunyai <u>distribusi normal</u> (p>0,05). Hasil tes homogenitas juga menyatakan bahwa data tersebut <u>homogen</u> (p>0,05) pada analisis statistik dengan *one way ANOVA* yang dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil uji perbandingan antara rerata *optical density* kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan serta antar kelompok perlakuan dengan *one way ANOVA* dapat dilihat pada tabel 5.2.

<b>Tabel 5.2.</b> Hasil uji one way	ANOVA antara rerat	a optical density	kelompok kontro	l dengan		
kelompok perlakuan serta antar kelompok perlakuan						

TEGDMA	Rerata $Optical density \pm SD$	Sig	
Kontrol	$1,81 \pm 0,11$	0,153	
4 mM	$1,71 \pm 0.08$		
Kontrol	$1,81 \pm 0,11$	0,004*	
8 mM	$1,59 \pm 0,11$		
Kontrol	$1,81 \pm 0,11$	0,000*	
12 mM	$1,50 \pm 0,16$		
4 mM	$1,71 \pm 0,08$	0,086	
8 mM	$1,59 \pm 0,11$		
4 mM	$1,71 \pm 0,08$	0,006*	
12 mM	$1,50 \pm 0,16$		
8 mM	$1,59 \pm 0,11$	0,207	
12 mM	$1,50 \pm 0,16$		

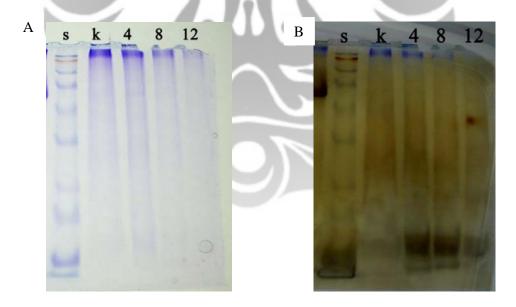


**Gambar 5.4** Grafik viabilitas sel-sel pulpa gigi kelompok kontrol dan perlakuan setelah pemaparan TEGDMA

Berdasarkan tabel 5.1, tabel 5.2, gambar 5.3, gambar 5.4 dapat dilihat nilai rerata OD mengalami penurunan dari kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol rerata OD  $(1,81\pm0,11)$  lebih tinggi dibandingkan pada kelompok pemaparan TEGDMA 4 mM  $(1,71\pm0,08)$ , 8 mM  $(1,59\pm0,11)$ , dan 12 mM  $(1,50\pm0,16)$ . Menurut hasil *one way ANOVA* yang

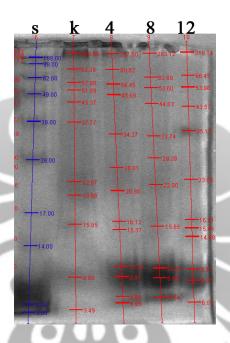
memiliki rerata OD yang bermakna hanya kelompok pemaparan TEGDMA 8 mM dan 12 mM jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada gambar 5.4 tampak penurunan viabilitas sel seiring peningkatan konsentrasi paparan. Viabilitas sel pada kelompok kontrol (100%) memiliki nilai yang paling tinggi dibandingkan kelompok pemaparan TEGDMA 4 mM (94,5%), 8 mM (87,8%) dan 12 mM (83%). Oleh karena itu, hipotesis pertama yang menyatakan TEGDMA dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel dapat diterima.

Profil protein sel pulpa diperoleh dari tampilan band-band hasil Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) secara kualitatif. Teknik SDS-PAGE yang digunakan pada penelitian ini melalui dua teknik pewarnaan (double staining), yaitu Coomassie blue dan Silver stain yang dapat dilihat pada gambar 5.5. Dengan double staining, gambaran band-band protein akan lebih jelas jika dibandingkan dengan satu macam teknik pewarnaan. Pada gambar 5.5.B terlihat band-band protein dengan berat molekul rendah, yang semula tidak tampak pada pewarnaan pertama dengan Coomassie blue (gambar 5.5.A). Pada gambaran tersebut, band-band protein yang semula tampak tidak jelas menjadi lebih jelas.



**Gambar 5.5** Gambaran profil protein sel-sel pulpa gigi dengan pewarnaan: Coomassie blue (gambar A) dan *double staining* dengan Silver stain (gambar B). Keterangan *band-band* yang terbentuk: protein standard *See BluePlus2 pre-stain standard* (s), kelompok kontrol (k), kelompok perlakuan TEGDMA (4mM), (8mM) dan (12 mM). Pemotretan dilakukan dengan menggunakan digital kamera Kodak M853

Dengan menggunakan teknik *Band Analysis Quick Guide* pada Gel Doc dapat diidentifikasi berat molekul *band-band* protein. Berat molekul *band-band* protein sampel dapat diketahui berdasarkan *band-band* protein standar yang sudah diketahui berat molekulnya. Dalam penelitian ini protein standar yang digunakan adalah *See BluePlus2 pre-stain standard* (Gambar 5.6)



**Gambar 5.6** Gambaran hasil identifikasi berat molekul protein sel pulpa gigi dengan pemotretan Gel-Doc Bio-Rad. Keterangan *band-band* yang terbentuk: protein standard *See BluePlus2 prestain standard* (s), kelompok kontrol (k), kelompok perlakuan TEGDMA (4mM), (8mM) dan (12mM).

Pada tampilan analisis gel elektroforesis, tampak perbedaan *band-band* yang muncul pada kelompok kontrol dan perlakuan. Protein dengan berat molekul tertentu yang muncul pada kelompok kontrol (82,38 kDa) dan kelompok perlakuan TEGDMA 4 mM (80,82 kDa), tidak tampak pada kelompok perlakuan TEGDMA 8 mM dan 12 mM. Dari segi kualitas seiring dengan peningkatan konsentrasi pemaparan TEGDMA, pada protein dengan berat molekul kisaran 19-23 kDa terlihat penipisan warna. Sedangkan *band* protein dengan berat molekul rendah (8-10 kDa) tampak pelebaran *band* dan penebalan warna dari kelompok perlakuan TEGDMA 4 mM ke 8 mM, tetapi menipis kembali pada kelompok perlakuan TEGDMA 12 mM. Hal tersebut juga terjadi pada protein dengan berat

molekul 15,95 kDa pada kelompok kontrol, pada kelompok perlakuan TEGDMA 4 mM dan 12 mM tampak pelebaran *band* walaupun tanpa penebalan warna, sedangkan pada kelompok perlakuan TEGDMA 8 mM tampak *band* protein menebal dan melebar. Tampilan profil protein yang menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan kelompok lainnya adalah pada kelompok perlakuan TEGDMA 12 mM, tampilan *band* protein dengan berat molekul 35,13 nampak jelas dengan intensitas warna yang cukup tebal. Dari hasil analisis tersebut dapat diketahui bahwa pemaparan TEGDMA pada kultur sel-sel pulpa gigi dapat mempengaruhi profil protein. Hal ini sesuai dengan hipotesis kedua, sehingga hipotesis kedua dapat diterima.

