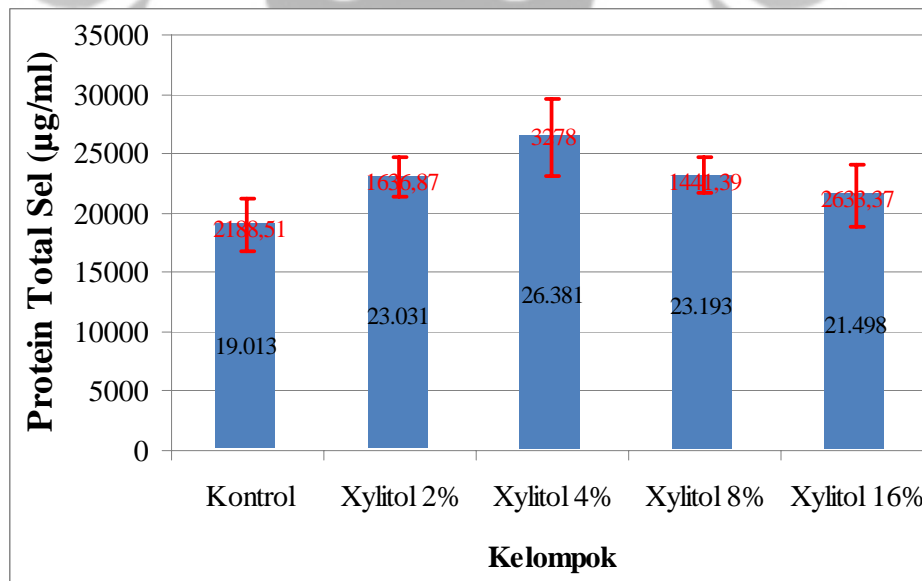


BAB 5
HASIL PENELITIAN

Dari penelitian ini didapat hasil berupa data-data pengukuran protein total sel-sel pulpa gigi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan xylitol. Data-data tersebut dapat dilihat pada tabel 5.1 dan gambar 5.1.

Tabel 5.1. Rerata Konsentrasi Protein Total Sel-sel Pulpa Gigi ($\mu\text{g/ml}$)
Kelompok kontrol dan Kelompok Perlakuan Xylitol

Kelompok	n	Rerata ($\mu\text{g/ml}$)	\pm SD
Kontrol	7	19013.045	\pm 2188.51
Xylitol 2%	10	23031.305	\pm 1636.87
Xylitol 4%	6	26380.865	\pm 3278.0
Xylitol 8%	9	23192.574	\pm 1441.39
Xylitol 16%	6	21498.481	\pm 2633.37



Gambar 5.1. Diagram Batang Rerata Konsentrasi Protein Total Sel-sel Pulpa Gigi ($\mu\text{g/ml}$)
Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan.

Berdasarkan tabel 5.1 dan gambar 5.1, terlihat adanya peningkatan rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi dari kelompok kontrol ke kelompok 2% dan 4%, diikuti dengan penurunan rerata konsentrasi protein total dari kelompok perlakuan 4% ke kelompok perlakuan xylitol 8% dan 16%. Rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi ($\mu\text{g/ml} \pm \text{SD}$) kelompok 2%, 4%, 8%, dan 16% berturut-turut adalah $(23031,305 \pm 1636,87)$, $(26380,865 \pm 3278,0)$, $(23192,574 \pm 1441,39)$, $(21498,481 \pm 2633,37)$. Semua rerata konsentrasi tersebut masih lebih tinggi dari kelompok kontrol $(19013,045 \mu\text{g/ml} \pm 2188,51)$. Protein total sel-sel pulpa gigi pada kelompok perlakuan 4% menjadi kelompok dengan rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi tertinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan xylitol lainnya.

Setelah diketahui memiliki distribusi yang normal dan homogen, data-data hasil penelitian ini dilakukan tes statistik *Oneway* ANOVA. Data-data hasil tes statistik *Oneway* ANOVA dapat dilihat pada tabel 5.2.

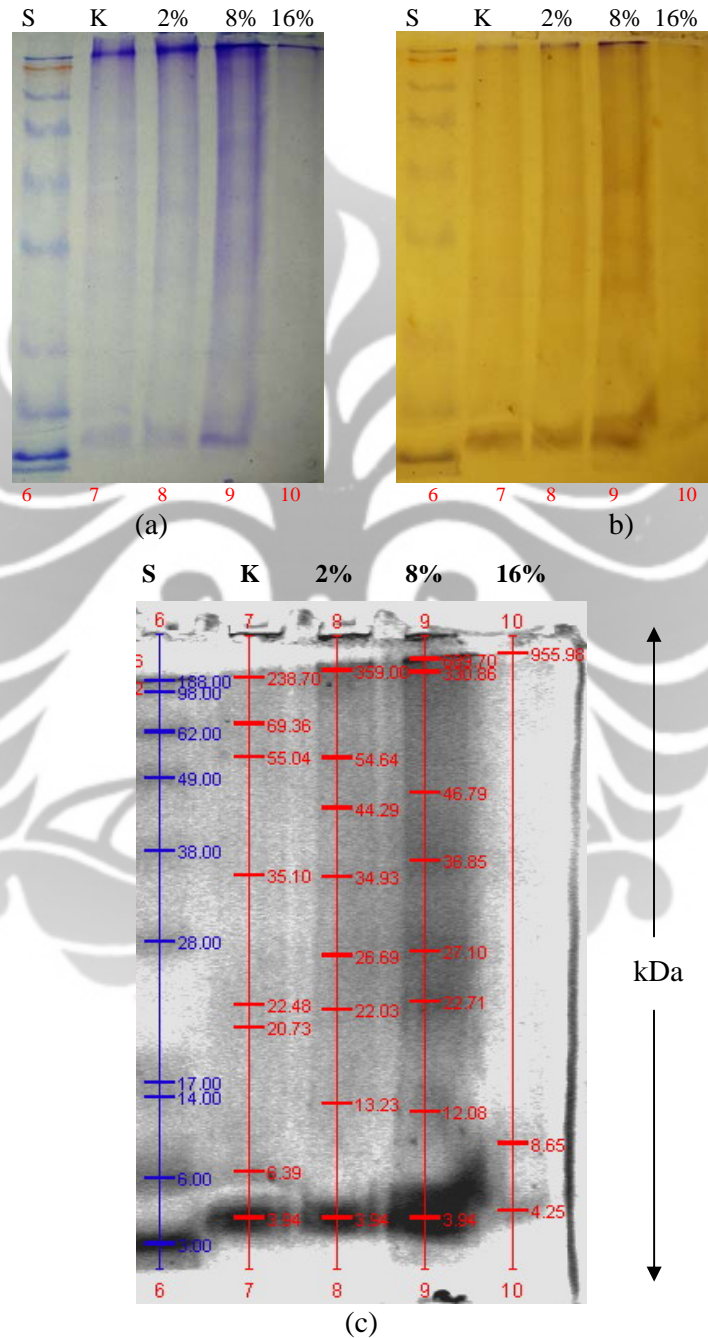
Tabel 5.2. Hasil Tes Statistik *Oneway* ANOVA

Kelompok	Mean ($\mu\text{g/ml}$) \pm SD	Perbandingan dengan Kelompok		
		Kelompok	Mean ($\mu\text{g/ml}$) \pm SD	Signifikansi
kontrol	$19013,045 \pm 2188,51$	Xylitol 2%	$23031,305 \pm 1636,87$	0,001
		Xylitol 4%	$26380,865 \pm 3278,0$	0,000
		Xylitol 8%	$23192,574 \pm 1441,39$	0,001
		Xylitol 16%	$21498,481 \pm 2633,37$	0,049
Xylitol 2%	$23031,305 \pm 1636,87$	Xylitol 4%	$26380,865 \pm 3278,0$	0,006
		Xylitol 8%	$23192,574 \pm 1441,39$	0,873
		Xylitol 16%	$21498,481 \pm 2633,37$	0,184
Xylitol 4%	$26380,865 \pm 3278,0$	Xylitol 8%	$23192,574 \pm 1441,39$	0,009
		Xylitol 16%	$21498,481 \pm 2633,37$	0,000
Xylitol 8%	$23192,574 \pm 1441,39$	Xylitol 16%	$21498,481 \pm 2633,37$	0,151

Perbedaan rerata konsentrasi yang bermakna ($p < 0,05$) terjadi antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil tersebut, maka hipotesis pertama yang menyebutkan bahwa xylitol dapat meningkatkan protein total sel-sel pulpa gigi dapat diterima. Perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terjadi antara kelompok perlakuan xylitol 4% dengan kelompok perlakuan xylitol 2%, 8%, dan

16%. Namun perbedaan rerata konsentrasi antara kelompok perlakuan xylitol 2%, 8%, dan 16% tidak bermakna.

Hasil gambaran profil protein sel-sel pulpa gigi dengan menggunakan metode SDS PAGE dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2. Gambaran Profil Protein Total Sel-sel Pulpa Gigi Setelah: (a) Diberi Coomassie Blue Staining, (b) Diberi Silver Staining (c) Dianalisis Dengan Gel Doc

Gambar 5.2 a adalah hasil SDS PAGE setelah diberi *coomassie blue staining*. Gambar 5.2 b adalah hasil SDS PAGE setelah diberi *silver staining*. Gambar 5.2 c adalah gambaran profil protein yang telah diberi *double staining* dan dianalisis dengan *Gel Doc*. Pada hasil SDS PAGE dengan *coomassie blue staining*, *band-band* protein belum terlihat jelas sehingga dilanjutkan dengan *silver staining* (*double staining*) lalu dianalisis dengan *Gel Doc*.

Pada gambar 5.2 (a, b, dan c) terlihat adanya kolom dari tiap kelompok penelitian. *Line 6* menunjukkan profil protein standard. *Line 7, 8, 9, dan 10* secara berturut-turut menunjukkan profil protein sel-sel pulpa gigi kelompok kontrol, kelompok perlakuan xylitol 2%, 8%, dan 16%.

Pada gambar 5.2 c, tiap-tiap *line* terdapat *band-band* protein. Identifikasi berat molekul *band-band* protein tersebut berdasarkan berat molekul pada *band-band* protein standard yang sudah diketahui. Pada gambar 5.2 c, terlihat adanya perubahan profil protein yang terjadi antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan xylitol. Perubahan profil protein dapat terlihat dengan munculnya *band* protein pada kelompok perlakuan xylitol, tetapi tidak ada pada kelompok kontrol. Pada berat molekul rendah, terlihat adanya *band* protein yang teridentifikasi sebagai *band* kedua pada *line* kelompok perlakuan xylitol 2% (13,23 kDa) dan kelompok perlakuan 8% (12,08 kDa). *Band* protein juga tampak sebagai *band* keempat pada *line* kelompok perlakuan xylitol 2% (26,69 kDa) dan kelompok perlakuan 8% (27,10 kDa). Pada berat molekul tinggi, terlihat adanya *band* protein yang teridentifikasi sebagai *band* keenam pada *line* kelompok perlakuan xylitol 2% (44,29 kDa) dan kelompok perlakuan 8% (46,79 kDa). *Band-band* protein pada kelompok perlakuan 16% hanya terlihat pada berat molekul 4,25 kDa, 8,65 kDa, dan 955,98 kDa. Namun pada gambar 5.2 b di *line* kelompok perlakuan xylitol 16% terlihat adanya *band-band* protein pada kisaran berat molekul 14-98 kDa.

Berdasarkan hasil identifikasi profil protein tersebut, maka hipotesis kedua yang menyatakan bahwa xylitol dapat mempengaruhi profil protein sel-sel pulpa gigi dapat diterima.

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ditunjukkan bahwa xylitol dapat meningkatkan protein total sel-sel pulpa gigi (Tabel 5.1 dan Gambar 5.1). Rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi pada kelompok perlakuan xylitol 2%, 4%, 8%, dan 16% lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Pada tabel 5.3, ditunjukkan perbedaan yang signifikan antara rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan xylitol 2%, 4%, 8%, dan 16%. Namun rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi kultur antar kelompok perlakuan xylitol 2%, 8%, dan 16% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Protein total sel dapat ditemukan didalam sel-sel yang hidup. Semakin banyak sel-sel hidup, maka protein total sel dapat meningkat.

Hasil penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Rahadian B dan Noormanadi P (belum dipublikasikan). Rahadian B melaporkan bahwa xylitol dapat meningkatkan viabilitas sel-sel pulpa gigi.³⁹ Sedangkan Noormanadi P melaporkan bahwa xylitol dapat menurunkan rerata konsentrasi protein total medium kultur sel-sel pulpa gigi.⁴⁰ Hal tersebut mengindikasikan bahwa paparan xylitol dapat mempengaruhi proliferasi dan atau diferensiasi sel-sel pulpa gigi.

Pada diagram batang rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi (gambar 5.1), terlihat adanya peningkatan rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi dari kelompok kontrol ke kelompok perlakuan xylitol 2% dan 4% yang diikuti penurunan rerata konsentrasi protein total sel-sel pulpa gigi dari kelompok perlakuan xylitol 4% ke kelompok perlakuan xylitol 8% dan 16%. Peningkatan rerata konsentrasi protein total tersebut diduga berkaitan dengan respon sel terhadap benda asing. Beberapa penelitian terdahulu melaporkan bahwa rangsangan kimia dan mekanik dapat meningkatkan proses transkripsi protein dalam sel.⁴¹ Peningkatan rerata konsentrasi protein total sel tersebut juga diduga berkaitan dengan peningkatan osmolalitas lingkungan kultur sel-sel pulpa gigi. Xylitol juga diketahui dapat meningkatkan osmolalitas lingkungan sel.⁴² Osmolalitas merupakan istilah yang digunakan untuk mendeskripsikan

konsentrasi partikel yang terlarut dalam suatu larutan.⁴³ Osmolalitas menyatakan jumlah mol zat yang terlarut dalam 1000 gram pelarut.⁴⁴ Peningkatan osmolalitas dilingkungan sel menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel untuk mengimbangi terjadinya tekanan hiperosmotik dari lingkungan.⁴² Akibatnya akan terjadi peningkatan transport asam amino dari lingkungan ke dalam sel sehingga terjadi akumulasi asam amino didalam sel.⁴² Hal tersebut mengindikasikan terjadinya peningkatan protein total sel-sel pulpa gigi. Penurunan rerata konsentrasi protein total tersebut diduga merupakan efek samping dari pemaparan xylitol yang merupakan bahan kimia terhadap sel-sel pulpa gigi. Semua bahan kimia memiliki potensi toksisitas terhadap sel tergantung dari besar dosisnya.⁴⁵ Toksisitas bahan kimia terhadap sel dapat berujung pada kematian sel.⁴⁵ Penurunan rerata konsentrasi protein total sel tersebut juga diduga berkaitan dengan peningkatan osmolalitas lingkungan kultur sel-sel pulpa gigi. Osmolalitas yang terlalu tinggi dapat menyebabkan tekanan hiperosmotik yang dapat menghambat sintesis protein dan menyebabkan nekrosis pada sel.⁴⁶ Penurunan rerata konsentrasi protein pada kelompok perlakuan 8% dan 16% diduga karena tekanan hiperosmotik xylitol didalam medium yang menghambat sintesis protein atau menyebabkan nekrosis pada sel-sel pulpa gigi.

Pada gambaran profil protein yang telah dianalisis (gambar 5.2 c), tampak adanya *band-band* protein yang jelas pada kelompok perlakuan xylitol 2% dan 8%, tetapi tidak pada kelompok perlakuan xylitol 16%. Namun pada hasil SDS PAGE setelah diberi *silver staining* (gambar 5.2 b), pada *line* kelompok perlakuan xylitol 16% terlihat adanya *band-band* protein pada kisaran 14-98 kDa. *Silver staining* dapat mewarnai protein dengan tingkat sensitivitas yang lebih tinggi daripada *coomassie blue staining*.⁴⁷

Pada kelompok perlakuan 2% dan 8%, tampak *band* protein dengan berat molekul 44 kDa. *Band* tersebut diduga enzim *Mitogen-activated Protein* (MAP) kinase yang diproduksi didalam sel sebagai respon terhadap rangsangan kimia dan atau mekanik. MAP kinase merupakan enzim yang berperan penting pada proliferasi, diferensiasi, dan pertahanan hidup sel. MAP kinase dapat teraktivasi karena adanya faktor hormon, faktor pertumbuhan, atau perubahan pH.⁴¹ Aktivasi MAP kinase diketahui tidak terpengaruh oleh tekanan hiperosmotik pada

lingkungan sel.⁴⁸ Xylitol diduga sebagai bahan kimia yang dapat menimbulkan respon sel-sel pulpa gigi, yaitu memicu aktivitas sintesis protein didalam sel-sel pulpa gigi.

Pada *line* kelompok perlakuan 2% dan 8% juga tampak *band* protein dengan berat molekul 26 dan 27 kDa. *Band* dengan berat molekul 26 kDa dapat diduga IL-1 *inducible 26k factor* yang diketahui merupakan faktor yang menginduksi sel-sel fibroblas manusia.⁴⁹ Xylitol diduga sebagai pemicu munculnya IL-1 *inducible 26k factor* yang dapat menginduksi sel-sel fibroblas pada pulpa gigi. Pertumbuhan yang terjadi pada sel-sel fibroblas dapat meningkatkan protein total sel-sel pulpa giginya. *Band* dengan berat molekul 27 kDa dapat diduga sebagai *Heat Shock Protein (HSP) 27* yang mencegah aktivasi *caspase-3* sehingga dapat menghambat kematian sel (antiapoptotik).⁵⁰ Xylitol diduga sebagai pemicu munculnya protein HSP 27 yang dapat menghambat apoptosis sel-sel pulpa gigi sehingga protein total dalam sel dapat meningkat.

Band dengan berat molekul 12 kDa dan 13 kDa diduga merupakan FKBP 12 dan FKBP 13.⁵¹ FKBP (*FK506 binding protein*) merupakan protein yang belum diketahui fungsi spesifiknya.⁵¹ FKBP 12 dan FKBP 13 merupakan bagian dari keluarga FKBP.⁵¹ Paling tidak terdapat 10 macam FKBP yang dapat ditemukan di semua jaringan didalam tubuh manusia.⁵¹ FKBP12 dapat berikatan dengan *drug immunophilin complex* dan dapat menghambat protein *phosphatase calcineurin* sehingga FKBP12 akan menghambat sinyal transduksi yang mengaktifkan sel T.^{51,52} FKBP13 dapat ditemukan di retikulum endoplasma dan dapat berikatan dengan m-RNA menjadi FKBP m-RNA yang berperan penting dalam pembentukan protein.⁵¹ FKBP dapat berikatan dengan reseptor *growth factor*, seperti IL-2, yang dapat mengaktifasi MAP kinase.⁵³ Xylitol diduga sebagai bahan kimia yang mempengaruhi pembentukan protein-protein tersebut dan secara tidak langsung memicu pembentukan protein dalam sel-sel pulpa gigi.

Berdasarkan data-data hasil penelitian ini, xylitol diduga memiliki efek yang dapat meningkatkan jumlah protein total sel-sel pulpa gigi dan menimbulkan perubahan profil protein sel-sel pulpa gigi. Namun penelitian ini tidak menjelaskan mekanisme kerja xylitol dalam menimbulkan efek tersebut dan tidak menentukan jenis protein apa yang dibentuk sel setelah terpapar xylitol.