

Sitotoksitas resin akrilik jenis heat-cured terhadap sel fibroblast (Cytotoxicity of heat-cured acrylic resin to fibroblast cell)

Elly Munadziroh

Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
Surabaya - Indonesia

ABSTRACT

As a denture base, acrylic resin in intimate contact with a large area of the oral mucosa. Thus, it is important to know the biocompatibility of the resin. After polymerization small amount of methyl metacrylate monomer remain in the acrylic resins. Part of the residual monomer is gradually leached out and may react against the oral mucosa. The purpose of this in vitro study was to compare the biocompatibility of conventional and microwave cured acrylic resins that immersed and not immersed in running water for 17 hours after polymerization process, on viability of cultured baby hamster kidney (BHK 21) cell line. The data were analyzed with t-test. The result of this study indicated that there is significant difference between cell viability of conventional and microwave cured acrylic resin which are immersed and not immersed in running water for 17 hour. The conclusion immersed had the same cytotoxicity. The best result is acrylic resin microwave cured that immersed in running water for 17 hours.

Key words: cytotoxicity, acrylic resins, microwave-activated

Korespondensi (correspondence): Elly Munadziroh, Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Jln. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47 Surabaya 60132, Indonesia.

PENDAHULUAN

Resin akrilik masih merupakan bahan pilihan untuk pembuatan gigi tiruan lepasan.¹ Bahan dasar basis gigi tiruan ini adalah resin akrilik polimetil metakrilat jenis *heat-cured*. Bahan tersebut mempunyai beberapa keuntungan yaitu proses pembuatannya mudah, estetik cukup bagus, ekonomis, mudah direparasi, dan peralatannya sederhana.¹⁻³

Sebagai basis gigi tiruan, dalam pemakaiannya resin akrilik akan kontak dengan mukosa rongga mulut dalam waktu cukup lama, sehingga persyaratan biokompatibilitas mutlak diperlukan. Bahan kedokteran gigi harus memenuhi syarat biokompatibilitas yang dapat diterima oleh tubuh atau dengan kata lain tidak membahayakan penderita. Idealnya syarat bahan yang diletakkan dalam mulut antara lain tidak karsinogenik dan tidak menimbulkan alergi.²

Proses polimerisasi resin akrilik tidak dapat berlangsung sempurna, sehingga pada akhir polimerisasi masih terdapat monomer sisa, yaitu monomer yang tidak bereaksi menjadi polimer. Resin akrilik dengan proses kuring yang benar masih mengandung monomer sisa antara 0,2–0,5%.^{3, 4} Adanya monomer sisa yang terlepas dalam saliva dapat mengiritasi atau menyebabkan hipersensitifitas jaringan mukosa rongga mulut, berupa kemerahan *burning sensation*, pembengkakan serta rasa sakit.⁵⁻⁷ Demikian pula Zentner *et al.*⁸ membuktikan secara *in vitro* bahwa monomer resin akrilik tertentu bersifat toksik.

Salah satu cara uji untuk menentukan efek toksik suatu bahan adalah uji sitotoksitas pada suatu jaringan. Uji sitotoksitas adalah bagian dari evaluasi bahan termasuk bahan kedokteran gigi yang diperlukan untuk prosedur *screening standard*. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Beberapa keuntungan kultur *cell lines*, yaitu *papase* dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan dan obat-obatan di bidang kedokteran gigi, antara lain sel *Baby Hamster Kidney* (BHK-21) yang berasal dari fibroblas ginjal bayi hamster.

Terdapat beberapa macam resin akrilik yang berbeda cara polimerisasinya yaitu pada tahap aktivasinya, sehingga dibedakan menjadi resin akrilik *heat-cured*, resin akrilik *self-cured*, resin akrilik kuring gelombang mikro dan resin akrilik kuring sinar tampak. Resin akrilik *heat-cured* adalah resin akrilik yang polimerisasinya dilakukan dengan pemanasan, bahan ini merupakan bahan basis gigi tiruan yang paling sering dipakai sampai saat ini. Metode polimerisasi resin akrilik *heat-cured* ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan pemanasan konvensional yaitu kuring dengan pemanasan air dan pemanasan gelombang mikro.⁴

Anusavice² menganjurkan setelah proses kuring selesai, gigi tiruan lepasan sebelum diinsersi harus direndam dalam air selama 17 jam dengan tujuan untuk melepaskan sisa monomer yang masih tertinggal.

Kenyataannya sering kali pada praktek dokter gigi, karena waktu yang terbatas, gigi tiruan langsung diinsersi pada penderita tanpa dilakukan perendaman dalam air selama 17 jam. Waktu yang terbatas tersebut mungkin karena penderita menginginkan gigi tiruan segera dipakai, terutama alasan estetik. Sedangkan saat pembuatan gigi tiruan di laboratorium teknik, sering kali segera setelah gigi tiruan siap, langsung dikemas untuk segera dikirim kepada dokter gigi pemesannya. Pada tahap ini makin kecil kemungkinan gigi tiruan tersebut telah direndam, apalagi selama 17 jam.

Permasalahan yang dapat dikemukakan dari uraian di atas adalah apakah ada perbedaan sitotoksitas resin akrilik kuring konvensional dan kuring gelombang mikro segera setelah kuring yang direndam dan tanpa direndam dalam air selama 17 jam.

BAHAN DAN METODE

Resin akrilik *heat-cured* yang digunakan dalam penelitian eksperimental laboratoris ini adalah merk Biocryl yang dilakukan kuring dengan metode konvensional dan gelombang mikro. *Master model* terbuat dari teflon berbentuk bulat dengan diameter 12 mm, tebal 1 mm.⁹

Pembuatan sampel dengan kuring konvensional, mula-mula dibuat adonan gips keras dengan perbandingan air dan gips sesuai aturan pabrik, kemudian adonan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet bawah. *Master model* diletakkan di atas permukaan adonan, masing-masing 10 buah dalam satu kuvet, dидiamkan selama 15 menit. Setelah gips mengeras, seluruh permukaan gips dan *master model* diulas vaselin, kuvet atas dipasang, kemudian diisi dengan adonan gips. Gips dидiamkan sampai mengeras, kuvet dibuka, kemudian *master model* diambil. *Mold* yang terbentuk, diulas dengan bahan separasi kemudian diisi dengan adonan resin akrilik dengan *w/p ratio* dan cara manipulasi sesuai aturan pabrik. Kuvet ditutup dan dipress dengan *hydraulic bench press* dengan tekanan 22 kg/cm. Selanjutnya kuvet dipasang dalam *hand press*, dilakukan proses perebusan dengan suhu 100° C selama 20 menit, setelah kuvet dingin, sampel dikeluarkan dari kuvet, dirapikan dan dihaluskan.

Sampel resin akrilik dengan kuring gelombang mikro, digunakan kuvet plastik dengan tahap pembuatan yang sama dengan kuring konvensional. Setelah kuvet terisi adonan resin akrilik, kuvet dimasukkan kedalam *microwave oven* tepat di tengah *turn table microwave oven*, di samping kuvet diletakkan mangkok kecil dari bahan *pyrex* berisi air untuk menghindari terjadinya *over heating* selama proses polimerisasi. *Timer oven* diatur waktunya

15 menit pada suhu sedang.¹⁰ Setelah kuvet dingin, dibuka, sampel dikeluarkan, dirapikan dari bintil-bintil dan dihaluskan. Pembagian pada kelompok kasus.

Kelompok sampel yang direndam dalam air selama 17 jam, sampel dibuat 17 jam sebelum dilakukan uji sitotoksitas. Pada kelompok ini, setelah sampel siap, selanjutnya direndam dalam air selama 17 jam. Untuk kelompok sampel tanpa direndam, sampel dibuat segera sebelum dilakukan pengujian.

Uji sitotoksitas dilakukan secara *in vitro* pada masing-masing sampel, menggunakan kultur jaringan fibroblas (*cell line* BHK-21) dengan cara sebagai berikut, dalam tabung *roux* kultur *cell line* BHK-21 ditambahkan 20 ml *eagle media serum* (EMS) 10%, kemudian diinkubasi 48 jam dengan suhu 37° C, CO₂ 5%. *Cell line* diperiksa di bawah mikroskop, bila sudah penuh (*confluent*) larutan EMS dibuang, kemudian dibilas dengan PBS 10% sebanyak dua kali. Ditambahkan larutan *versin trypsin* 1 ml untuk melepas sel dari dinding *roux*, setelah sel lepas, ditambahkan media kultur yang di dalamnya terdapat serum *bovine* 10% untuk menghentikan reaksi *versin trypsin*. Dibuat sel dengan kepadatan 2×10^5 . Selanjutnya sel siap untuk digunakan dalam pengujian.

Sampel dicuci tiga kali dengan akuades steril, kemudian disterilkan dengan sinar ultra violet selama satu jam di dalam *laminar flow*. Selanjutnya sampel dilekatkan pada dasar *petri dish* kecil, dengan *silicone grease* steril, masing-masing satu sampel dalam satu *petri dish*. Pada masing-masing *petri dish* ditambahkan media, diinkubasi selama 48 jam, suhu 37° C, CO₂ 5%. Untuk kelompok kontrol, dalam tiga *petri dish* hanya berisi media saja, tanpa sampel resin akrilik. Setelah 48 jam larutan media dibuang, dibilas dua kali dengan PBS 10%, dan ditambahkan 1 ml *versin trypsin* 0,25%. *Petridish* digoyang-goyang selama 1 menit untuk melepaskan sel dari dinding *petri dish*. Selanjutnya ditambah 2 ml EMS 10%. Campuran sel diambil 0,1 ml, ditambahkan 0,9 ml *tryphan blue*, dan dicampur sampai homogen.

Campuran sel tersebut diteteskan pada hemositometer dan dihitung jumlah sel yang hidup dan yang mati di bawah mikroskop dengan metode Bird & Foster¹¹ yaitu persentase sel sama dengan jumlah sel yang hidup dibagi jumlah sel yang hidup ditambah jumlah sel yang mati dikalikan 100%. Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji t pada derajat kemaknaan (α) = 0,05.

HASIL

Pada tabel 1 tampak nilai rata-rata persentase sel hidup uji sitotoksitas resin akrilik.

Tabel 1. Nilai rata-rata dan standar deviasi persentase sel hidup uji sitotoksitas resin akrilik terhadap kultur jaringan (%)

	n	Rerata	Standar Deviasi
KR	7	96,5600	0,6715
KT	7	95,5814	0,6088
MR	7	97,9943	0,1520
MT	7	96,5214	0,7498
K	7	98,0371	98,0371

Keterangan:

KR = Resin akrilik kuring konvensional yang direndam dalam air selama 17 jam

KT = Resin akrilik kuring konvensional yang tidak direndam dalam air selama 17 jam

MR = Resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam dalam air selama 17 jam

MT = Resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam dalam air selama 17 jam

K = Kelompok kontrol

Tabel 2. Hasil uji t persentase sel hidup resin akrilik kuring konvensional yang direndam dan tidak direndam dalam air selama 17 jam

	KT	KR	K
KT	-	0,014*	0,0001*
KR		-	0,001 *

Hasil uji t pada tabel 2, menunjukkan bahwa ada perbedaan sel hidup yang bermakna antara resin akrilik kuring konvensional yang direndam dan tidak direndam dalam air selama 17 jam, demikian pula bila dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 3. Hasil uji t persentase sel hidup resin akrilik metode gelombang mikro yang direndam dan tidak direndam dalam air selama 17 jam

	MT	MR	K
MT	-	0,002*	0,002*
MR		-	0,657

Hasil uji t pada tabel 3, menunjukkan bahwa ada perbedaan sel hidup yang bermakna antara resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam dan tidak direndam dalam air selama 17 jam. Resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam tidak berbeda bila dibanding dengan kontrol.

PEMBAHASAN

Resin akrilik polimetil metakrilat antara lain dipakai sebagai bahan basis gigi tiruan, *relining* dan *rebasing* sehingga bahan tersebut akan kontak langsung dengan

jaringan mukosa mulut dalam jangka waktu lama. Diharapkan bahan tersebut bersifat biokompatibel terhadap tubuh manusia. Penggunaan gigi tiruan tersebut, sebagian akan kontak pada gingiva yang sebagian besar terdiri dari sel fibroblas, oleh karenanya pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksitas terhadap kultur sel fibroblast. Pada penelitian ini banyaknya sel hidup dan sel mati dilihat pada kultur *cell lines Baby Hamster Kidney-21* (BHK-21), oleh karena sel fibroblas BHK-21 mudah tumbuh dan mudah disub-kultur. Kultur terbaik berasal dari sel embrionik atau sel jaringan muda. Lefebvre & Schuster¹² menyatakan bahwa metode kultur untuk pengujian bahan kedokteran gigi, relatif mudah dilaksanakan, *reproducible* ekonomis dan dapat dikontrol dengan cermat. Sedangkan Rosenbluth *et al.* dalam Lefebvre *et al.*¹³ berpendapat bahwa kultur jaringan adalah metode yang paling tepat untuk menguji toksitas bahan plastik kedokteran gigi.

Jumlah sel pada penelitian ini dihitung secara langsung dengan cara menghitung jumlah sel hidup dan sel mati menggunakan hemositometer. Sel hidup tidak menyerap zat warna *tryphan blue*, sedangkan sel mati menyerap zat warna tersebut. Setelah dilakukan penghitungan, didapatkan jumlah rata-rata sel hidup dari kelima kelompok, pembagian kelompok sampel yaitu kelompok 1 (kontrol), kelompok 2 (kelompok resin akrilik kuring konvensional yang direndam dalam air selama 17 jam), kelompok 3 (kelompok resin akrilik kuring konvensional yang tidak direndam dalam air), kelompok 4 (kelompok resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam dengan air selama 17 jam), kelompok 5 (kelompok resin akrilik kuring gelombang mikro yang tidak direndam dalam air).

Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase sel hidup pada uji sitotoksitas resin akrilik kuring konvensional baik yang direndam maupun yang tidak direndam menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,014$). Resin akrilik kuring konvensional yang direndam menunjukkan nilai persentase sel hidup yang lebih besar daripada resin akrilik kuring konvensional yang tidak direndam. Hal ini kemungkinan karena pada resin akrilik yang direndam menghasilkan monomer sisa yang lebih sedikit dari pada resin akrilik yang tidak direndam.

Demikian pula halnya yang terjadi pada resin akrilik kuring gelombang mikro. Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase sel hidup pada uji sitotoksitas resin akrilik kuring gelombang mikro baik yang direndam maupun yang tidak direndam menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,002$). Resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam menunjukkan nilai persentase sel hidup yang lebih besar daripada resin akrilik kuring gelombang mikro yang tidak direndam. Hal ini kemungkinan karena pada resin akrilik yang direndam menghasilkan monomer sisa yang lebih sedikit daripada resin akrilik yang tidak direndam. Resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam tidak berbeda bermakna dibanding dengan kontrol.

Resin akrilik yang direndam menunjukkan perbedaan yang bermakna dibanding yang tidak direndam, baik yang

dikuring dengan metode konvensional maupun gelombang mikro, hal ini karena perendaman merupakan salah satu cara untuk mengurangi jumlah monomer sisa yang mudah dilakukan, sebelum gigi tiruan diinsersi pada penderita. Pada proses ini monomer sisa akan terus menerus larut (*leaching*).¹⁴ Massa monomer sisa dalam resin akrilik lebih kecil dari massa disekitarnya, massa monomer sisa tersebut berusaha keluar dari resin akrilik yang kemudian akan digantikan dengan molekul air. Setelah polimerisasi monomer sisa yang keluar berjumlah paling banyak dan akan terus berkurang. Sadamori¹⁴ mengatakan monomer sisa akan terus keluar sampai tahun keempat dan tahun kelima. Monomer sisa adalah monomer yang tidak bereaksi dengan polimer, yang akhirnya berpotensi mengiritasi jaringan mukosa rongga mulut.^{2,7}

Resin akrilik kuring konvensional menunjukkan perbedaan yang bermakna bila dibandingkan dengan kontrol, hal ini kemungkinan karena pada kuring konvensional, energi panas berasal dari luar, sehingga molekul-molekul monomer di bagian luar yang menerima panas tersebut meneruskan panas ke molekul-molekul monomer di bagian dalam. Molekul-molekul monomer tersebut bergerak secara pasif akibat panas dari luar, oleh karena itu proses polimerisasi dimulai dari arah luar ke dalam. Akibatnya monomer sisa mudah terjebak di dalam adonan, yang mengakibatkan terdapat monomer sisa di dalam resin akrilik.¹⁵

Dari tabel 3 tampak bahwa prosentase sel hidup pada uji sitotoksitas resin akrilik kuring gelombang mikro tidak berbeda bermakna dibanding dengan kontrol ($p = 0,657$). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam adalah kelompok terbaik, hal ini kemungkinan karena pada kuring gelombang mikro, energi panas dihasilkan sebagai akibat pergerakan yang sangat cepat dari molekul-molekul monomer yang digerakkan oleh medan elektromagnetik frekwensi tinggi, sehingga akibat dari benturan-benturan intermolekuler tersebut terjadi panas dari dalam ke arah luar. Arah energi panas tersebut (dari dalam massa adonan ke arah luar) memperkecil kemungkinan terjebaknya monomer sisa di dalam resin akrilik.¹⁰

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dikatakan bahwa makin kecil kandungan monomer sisa dalam resin akrilik maka makin tinggi prosentase sel hidup. Telli *et al.*¹⁶ menyatakan bahwa parameter toksitas adalah berdasarkan *Cell Death*₅₀ (CD_{50}), yang artinya suatu bahan dikatakan toksik apabila prosentase sel hidup setelah terpapar bahan tersebut prosentase sel hidup kurang dari 50%.

Neyt¹⁷ mengatakan bahwa bahan yang biokompatibilitasnya baik harus mendekati atau sama dengan 100% nilai rata-rata prosentase sel hidup, atau 92,3-100%.¹⁸ Dari hasil penelitian ini, bahan basis gigi

tiruan resin akrilik baik yang direndam maupun yang tanpa direndam telah memenuhi syarat tersebut, artinya tidak toksik karena prosentase sel hidup masih diatas 93%.

Dari pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa resin akrilik kuring konvensional dan gelombang mikro, baik yang direndam maupun tanpa direndam air selama 17 jam mempunyai sitotoksitas yang sama. Hasil terbaik adalah kelompok resin akrilik kuring gelombang mikro yang direndam dengan air selama 17 jam.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anusavice. Phillips' science of dental materials. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 2003; p. 721-2.
2. Anusavice KJ, Phillips. Science of dental materials. 10th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1996; p. 237-72.
3. Phillips RW. Skinner's science of dental materials. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1991; p. 177-295.
4. Combe EC. Notes on dental materials. 6th ed. Edinburg, London, Melbourne, New York: Churchill Livingstone. 1992; p. 123-5.
5. McCabe JF, Basker RM. Tissue sensitivity to acrylic resin. Brit Dent J. 1976; 140: 347-50.
6. Delvin H, Watts DC. Acrylic allergy. Br Dent J. 1984; 157: 272-5.
7. Zografakis MA, Harrison A, Hugget R. Measurement of residual monomer in denture base materials: studies on variation in methodology using gas-liquid Chromatography. J Prosthodont Restor Dent. 1994; 2(3): 101-7.
8. Zentner MA, Sergl HG, Kretschmer A. An in vitro study of resin used in orthodontics for their cell toxicity. Fortschr- Kieferorthop. 1994; 55(6): 311-8.
9. Sheridan PJ, Koka S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. J Prosthodont. 1997; 10: 73-7.
10. De Clerck JP. Microwave polymerization of acrylic resin used in dental prostheses. J Prosthet Dent. 1987; 57: 650-8.
11. Bird BR, Forrester FT. Basic laboratory technique in cell culture. US. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Center of Disease Control. 1981: 33-43.
12. Lefebvre CA, Schuster GS. Biocompatibility of visible light-cured resin systems in prosthodontics. J Prosthet Dent. 1994; 71: 178-85.
13. Lefebvre CA, Schuster GS, Caughman GB, Caughman WF. Effects of denture base resin on oral epithelial cells in prosthodontics. J Prosthet Dent. 1991; 4: 371-6.
14. Sadamori S, et al. The usage period of denture and there residual monomer contents. J Prosthet Dent. 1992; 68(2): 374-6.
15. Sanders JL, Levin B, Reitz PV. Porosity in denture acrylic resins cured by Microwave Energy. Quintessence International. 1987; 18(18): 453-6.
16. Telli C, Serper A, Dogan AL, Gue D. Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal sealers by MTT assay. J Endodon. 1999; 25: 811-3.
17. Neyt LF. Augmentasi tulang alveolaris dan *sinus lift* dengan tehnik mutakhir. Ceramah Sehari di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. 19 Pebruari 1998.
18. Rubianto M. Biokompatibilitas bahan allograft (human bone mineral powder) dibandingkan dengan bahan alloplast (hydroxylapatite). Kumpulan Naskah Temu Ilmiah Nasional I (TIMNAS I) Peringatan 70 Tahun Pendidikan Dokter Gigi Indonesia. 1998; 507-9.