

Laporan Penelitian

Sitotoksitas komposit serat selulosa sabut kelapa sebagai kandidat *novelty* basis pada material kedokteran gigi: studi eksperimental

Twii Agnita Cevanti¹
Diana Soesilo¹
Fani Pangabdian¹
Yongki Hadinata Wijaya^{1*}
Sinta Puspita¹
Ghita Hadi Hollanda²

*Korespondensi:
yongki.hadinata@hangtuah.ac.id

Submisi: 28 Maret 2023
Revisi: 28 Juni 2023
Penerimaan: 29 Juni 2023
Publikasi Online: 30 Juni 2023
DOI: [10.24198/pjdrs.v7i2.46092](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v7i2.46092)

¹Departemen Konservasi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Indonesia

²Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Teknologi *Fiber-reinforced composite* (FRC) sedang dikembangkan sebagai bahan inovatif dalam kedokteran gigi. Menipisnya sumber daya fosil merupakan masalah kritis untuk resin komposit serat saat ini. Sabut kelapa *Cocos nucifera* L. (coir) memiliki potensi tinggi untuk menggantikan bahan penguat serat sintesis sebagai bahan baru yang akan dikembangkan. Tujuan penelitian menganalisis toksisitas komposit serat selulosa coir sebagai material basis. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental *post-test only control group*. Selulosa dari coir disintesis menggunakan *organosolvent*, di bleaching dengan peroxide dalam larutan alkali, serta di nukleasi dengan etanol absolut. Dilakukan uji viabilitas sel fibroblas GT1 untuk serat selulosa kemudian pembuatan komposit selulosa coir dengan fraksi berat 70% filler serat selulosa, dan 30% matriks BisGMA, TEGDMA dan DGEBA. Selanjutnya komposit selulosa coir dilakukan uji toksisitas dari hasil rendaman komposit pada saliva buatan selama 7,14, dan 21 hari menggunakan sel fibroblas BHK-21. **Hasil:** Hasil uji *Post Hoc* LSD memberikan kesimpulan bahwa kelompok P-21 didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan K.Sel, P-7, P-14 dengan nilai $p < 0,05$. Dosis paling aman serat selulosa coir sebesar 12,5mg/ml; hasil uji Kruskal-wallis dari lama perendaman komposit terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ ($p = 0,001$). **Simpulan:** Serat selulosa coir tidak toksik sehingga dapat menjadi *filler* komposit sebagai salah satu prasyarat untuk menjadi kandidat *novelty* basis pada material komposit kedokteran gigi.

KATA KUNCI: coir, komposit, sitotoksitas, basis kedokteran gigi

Cytotoxicity of cellulose fiber from coconut coir as a novelty base candidate on dental materials: experimental study

ABSTRACT

Introduction: *Fiber-reinforced composite* (FRC) technology is being developed as an innovative material in dentistry. The depletion of fossil resources is a critical issue for current fiber composite resins. *Cocos nucifera* L. coconut fiber (coir) has high potential to replace synthetic fiber reinforcement as a new material to be developed. The aim of the study was to analyze the toxicity of coir cellulose fiber composites as a base material. **Methods:** This was a *post-test only control group* experimental study. Cellulose from coir was synthesized using *organosolvent*, bleached with peroxide in alkaline solution, and nucleated with absolute ethanol. GT1 fibroblast cell viability test was conducted for cellulose fibers and then coir cellulose composites were made with a weight fraction of 70% cellulose fiber filler, and 30% BisGMA, TEGDMA and DGEBA matrix. Furthermore, cellulose coir composites were tested for toxicity from the results of composite immersion in artificial saliva for 7, 14, and 21 days using BHK-21 fibroblast cells. **Results:** The results of the *Post Hoc* LSD test concluded that the P-21 group had a significant difference between the K.Sel, P-7, P-14 treatment groups with a value of $p < 0.05$. The safest dose of coir cellulose fiber is 12.5mg/ml; the results of the Kruskal-wallis test of the composite soaking time have significant differences between groups with a significance value of $p < 0.05$ ($p = 0.001$). **Conclusion:** Coir cellulose fiber is non-toxic so it can be a composite filler as one of the prerequisites to be a novelty base candidate in dental composite materials.

KEY WORDS: coir, composite, cytotoxicity, dental base

PENDAHULUAN

Material restorasi komposit saat ini sudah banyak memiliki sifat unggul namun tidak semuanya mampu melindungi pulpa selama *setting*, *cyclic thermal* atau *mechanical stressing*, oleh karena itu dibutuhkan material pelindung pulpa yang mempertimbangkan beberapa hal seperti perlindungan mekanis, termal, elektrik, dan kimia. Material tersebut harus dapat memenuhi tuntutan biologis yaitu mendisinfeksi dinding kavitas dan tubuli dentin, mencegah *injury* dentin dari material restorasi yang berbahaya, mencegah penetrasi dan pertumbuhan bakteri pada *interface* gigi dan restorasi.¹ Material pelindung pulpa yang diletakkan di antara dentin dan restorasi biasa kita sebut sebagai basis atau *liners*. Basis digunakan untuk memberikan perlindungan termal untuk pulpa dan menambah dukungan mekanis untuk restorasi dengan mendistribusikan *stress local* dari restorasi ke permukaan dentin dibawahnya.² Telah banyak dilakukan penelitian tentang penggunaan basis dibawah restorasi komposit. Klinisi lebih merekomendasikan penggunaan komposit *flowable* pada dasar kavitas sebagai lapisan pertama. Tujuannya supaya dapat bertindak sebagai *stress-absorbing layer*/*stress breaker* yang menyerap tekanan saat polimerisasi restorasi di atasnya sehingga tekanan penyusutan dapat diminimalkan dan meningkatkan adaptasi *marginal seal*.³ Komposit *flowable* memiliki sifat yang rendah viskositasnya, modulus elastisitasnya dan memiliki stabilitas yang tinggi. Sifat-sifat tersebut memberikan kemampuan penutupan tepi/*marginal seal* yang lebih baik sehingga dapat membantu mereduksi tekanan penyusutan saat polimerisasi.⁴

Penggunaan serat sebagai salah satu bahan restorasi di bidang kedokteran gigi menjadi suatu pilihan yang efektif pada restorasi komposit terutama pada restorasi posterior. Solusi inovatif yang saat ini sedang dikembangkan adalah teknologi *fiber-reinforced composite*. Serat dalam FRC berperan memberikan *transverse strength* yang lebih baik. Serat juga mengurangi *shrinkage* dalam arah tertentu serta memberikan *residual stress* yang lebih rendah.¹ Saat ini serat yang digunakan dalam FRC adalah serat sintetis. Sebagian besar serat sintetis tidak tersedia pada negara-negara berkembang serta biaya yang dibutuhkan sangat besar untuk proses produksinya. Menipisnya sumber fosil merupakan masalah kritis bagi resin komposit serat saat ini. Karena itulah potensi serat alam banyak dieksplorasi untuk menggantikan serat sintetis.^{2,3}

Serat sabut kelapa yang bernama latin *Cocos nucifera L.*(coir) saat ini banyak dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai bahan baku produk komposit di bidang industri. Sabut kelapa merupakan produk sampingan dan komponen terbesar dari buah kelapa. Sabut kelapa kaya akan sumber daya dan memiliki efek farmakologis yang penting dengan toksisitas rendah. Ekstrak sabut kelapa memiliki komponen senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Sabut kelapa telah diketahui mengandung senyawa bioaktif yang dikaitkan dengan khasiatnya diantaranya, tannin, flavonoid dalam bentuk *catechin* dan *epicatechin*, alkaloid dan saponin.^{3,4,5} Coir memiliki potensi yang tinggi untuk menggantikan bahan penguat serat sintetis. Teknik pemrosesan serat adalah faktor penting yang menentukan struktur dan sifat dari serat sebagai bahan penguat komposit di bidang material kedokteran gigi. Fitur penting yang mempengaruhi kekuatan dan ketangguhan suatu material komposit adalah kekuatan ikatan antara material *filler* dan matriks. Serat tanaman tidak dapat digunakan secara langsung dalam bentuk aslinya, dibutuhkan modifikasi untuk membersihkan serat supaya mendapatkan kekuatan ikatan yang optimal dengan matriksnya. Modifikasi pemrosesan serat bertujuan untuk mendapatkan bagian serat paling kuat yaitu serat selulosa sebagai serat utama yang akan digunakan sebagai *filler* resin komposit.⁶

Pembuatan komposit dengan *filler* serat selulosa dari sabut kelapa dengan viskositas rendah sedang dilakukan penelitian dengan material matriks yang digunakan adalah BisGMA, pengencer TEGDMA dan *diglycidyl ether of bisphenol-A* (DGEBA) sebagai bahan *coupling agent*. Sebagian besar monomer yang digunakan untuk matriks resin komposit dibidang kedokteran gigi adalah senyawa *dimethacrylate* yaitu *bisphenol A-glycidyl-dimethacrylate* (Bis-GMA). Studi jangka panjang yang menggunakan sistem in vitro telah menunjukkan efek buruk resin terjadi pada konsentrasi yang jauh lebih rendah ketika waktu paparan ditingkatkan menjadi 4 hingga 6 minggu. Beberapa hasil penelitian telah menunjukkan bahwa monomer yang dilepaskan menyebabkan kerusakan kimia pada sel yang dikultur.⁷ Saat ini, uji in vitro dan in vivo telah direkomendasikan oleh Organisasi Standar Internasional untuk. Evaluasi Biologis perangkat medis.⁸ Viabilitas sel adalah kemungkinan sel untuk dapat hidup setelah terpapar suatu bahan. Kematian sel mempengaruhi pengaturan pengembangan organisme, homeostasis jaringan dan respon *stress*, serta berhubungan dengan kelangsungan hidup sel dan proliferasi. Kematian sel yang terjadi akan memerlukan interaksi yang diatur oleh tiga proses yaitu apoptosis, nekrosis dan autofag.⁹ Sel *fibroblast* berfungsi sebagai sel pertahanan karena mampu berdiferensiasi sebagai *odontoblast* dan *osteoblast* dalam proses penyembuhan. Kemampuan sel *fibroblast* untuk berkembang dengan cepat dalam jaringan luka, serta mampu hidup sendiri dapat menjelaskan mengapa sel *fibroblast* dapat dengan mudah dibiakkan sehingga menjadi subjek sel yang paling digemari untuk penelitian biologis.¹⁰

Berdasarkan pemikiran tersebut peneliti ingin membuktikan bahwa serat selulosa coir mempunyai potensi sebagai calon potensial untuk bahan penguat alternatif yang terjangkau menggantikan bahan penguat serat sintetis pada resin komposit. Penelitian ini akan membuat material restorasi *intermediate* yaitu resin biokomposit berbasis Bis-GMA dengan viskositas rendah. Tujuan penelitian menganalisis toksisitas komposit serat selulosa coir sebagai material basis.

METODE

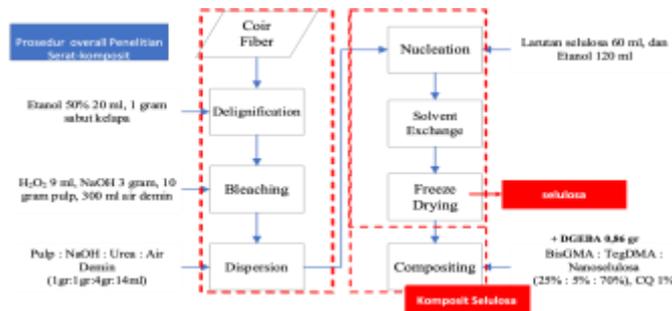
Sintesis serat selulosa coir dan pembuatan kompositnya dilakukan di Laboratorium Elektrokimia dan Korosi Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri dan Rekayasa Sistem ITS. Penelitian viabilitas sel dilakukan di Laboratorium Research Center FKG UNAIR Surabaya dan Pusvetma Surabaya. Bahan yang digunakan adalah Bis-GMA (*bisphenol A glycerolate dimethacrylate* / 494356 Sigma-Aldrich Company St. Louis, MO, USA), TEGDMA (*triethylene glycol dimethacrylate* ,Sigma-Aldrich Company St. Louis, MO, USA), EGDBA/DGEBA (V-117-2207 Sigma-Aldrich Company St. Louis, MO, USA), serat selulosa sabut kelapa, *Camphorquinone* (CQ) (Sigma-Aldrich Company St. Louis, MO, USA). Coconut coir berasal dari pasar keputih Surabaya, *fresh* Coir dioven pada suhu 60°C selama 24 jam untuk menghilangkan kelembaban/mengeringkan coir. Kemudian coir dihaluskan hingga menjadi bubuk.

Reagent yang digunakan untuk *treatment* alkali adalah ethanol (C₂H₅OH) (Merck), sodium hydroxide 4% w/w (NaOH) (Merck), hydrogen peroxide (H₂O₂), urea (PT. Petrokimia Gresik), and *demineralized water*. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari 2022 sampai Agustus 2022. Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experiment* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian pertama untuk menentukan sitotoksitas ekstrak serat selulosa sabut kelapa, sampel yang digunakan adalah serat selulosa dengan jumlah sampel terbagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol media, kontrol sel, kelompok perlakuan konsentrasi 12,5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml dan 100mg/ml. Masing-masing sampel dilakukan 6 kali replikasi sehingga total sampel 36. Penentuan besar sampel yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan protokol uji sitotoksitas *assay* MTT yang ditulis oleh Dahlan.¹² Ekstrak serat selulosa coir di uji aktivitas sitotoksitasnya terhadap sel *fibroblast gingiva* GT-1.

Persiapan ekstraksi serat selulosa coir diawali dengan proses delignifikasi menggunakan etanol 60%. Selanjutnya dilakukan *bleaching* untuk memudarkan warna coklat pada sabut kelapa menggunakan H₂O₂, NaOH, dan air demineral pada alat rotavapor. Sedangkan untuk sintesis serat selulosa, serat dilarutkan menggunakan NaOH dan urea, kemudian serat yang telah larut dituangkan kedalam larutan *antisolvent* etanol 99% dan dengan *rate* 20ml/min lalu dibiarkan hingga terjadi sedimentasi selulosa padat. Sedimentasi selulosa kemudian dilakukan *solvent exchange* menggunakan air demineral hingga pH netral, lalu serat dimasukkan ke dalam *freezer* dengan suhu -25°C. Kemudian selulosa beku di *freeze drying* pada suhu -45°C dengan tekanan 5 mTorr selama 24 jam. Hasil akhir ekstrak berupa padatan powder/serbuk serat selulosa¹³

Ekstrak serat selulosa coir dibuat dalam 4 konsentrasi yang berbeda, yakni 12,5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml dan 100mg/ml dengan menggunakan pelarut medium α-MEM. Mempersiapkan *microplate* dengan 96 well kemudian kultur sel fibroblas GT1 dengan kepadatan 3x10³ dalam media kultur Eagle's *Minimum Essential Medium* (MEM) dimasukkan 100 µl pada *well*. Ekstrak serat selulosa coir 12,5%, 25%, 50% dan 100% sesuai kelompok sampel dimasukkan sebanyak 50 µg untuk tiap *well*. *Microplate* diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C, 5% CO₂. *Microplate* dikeluarkan dari inkubator, media di dalam *well* diambil menggunakan *syringe*. Ditambahkan media kultur sebanyak 100 µl dan MTT 5mg/ml dalam PBS sebanyak 50 µl untuk tiap *well*. *Microplate* diinkubasi kembali selama 3 jam. Media dan MTT diambil menggunakan *syringe* ditambahkan DMSO sebanyak 50 µl untuk tiap *well* kemudian di shaker selama 5 menit. Nilai densitas optik *formazen* dibaca dengan *ELISA reader* panjang gelombang 620 nm.

Tahapan pembuatan komposit diawali dengan penimbangan 70% berat bubuk serat selulosa dalam *glass beaker*, 25% berat resin matriks BisGMA dan 5% berat TEGDMA dari berat komposit 1 gram. Pencampuran serat dan matriks dilakukan menggunakan alat sonikator selama 60 menit. Kemudian ditambahkan DGEBA 10% (0,86gr) dari berat komposit dan *camphorquinone* 1% dari berat matriks dicampur menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam.¹³



Gambar 1. Diagram prosedur sintesis serat selulosa coir dan pembuatan komposit selulosa coir



Gambar 2. Serbuk serat selulosa coir dengan rate 20ml/menit

Tahapan perendaman komposit serat selulosa coir dan uji viabilitas sel BHK-21, setelah pembuatan komposit serat selulosa coir kemudian dilakukan perendaman komposit serat tersebut pada saliva buatan selama 7 hari, 14 hari dan 21 hari. Jenis penelitiannya *true experimental* laboratoris dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel komposit selulosa coir terbagi menjadi 3 kelompok lama waktu perendaman, dengan replikasinya 6 kali pada masing-masing kelompok sehingga jumlah sampel adalah 18, perhitungan berdasarkan rumus Dahlan¹². Analisis sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT Assay. Absorbansi sel dianalisis menggunakan panjang gelombang 655 nm *visible spectrophotometer* (Bio-Rad® *Microplate Reader Benchmark*).

Hasil akhir yang diperoleh dari nilai absorbansi dapat menggambarkan viabilitas sel terhadap sampel. Uji MTT Assay menunjukkan nilai persentase perbandingan nilai absorbansi dari sampel terhadap kontrol sel dan kontrol media sebagai viabilitas *fibroblast cell line* dengan menggunakan persamaan *In Vitro Technologies* sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas sel} = \frac{\text{OD kelompok perlakuan}}{\text{OD kelompok kontrol sel}} \times 100\%$$

Gambar 3. persamaan *In Vitro Technologies*

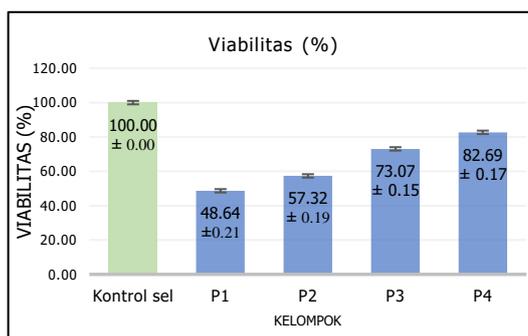
Uji sitotoksitas dilakukan dengan menggunakan larutan MTT yang bersifat toksik dan berwarna kuning. Reaksi larutan MTT terhadap sel ditandai dengan perubahan warna yang menjadi hitam pekat, sedangkan aplikasi larutan MTT pada *blank* tidak menyebabkan perubahan warna (tetap berwarna kuning seperti larutan MTT). Perubahan warna menjadi hitam merupakan terjadinya reduksi MTT menjadi formazan. Derajat kepekatan warna hitam sampel setelah pemberian MTT diukur dengan memanfaatkan prinsip absorbansi. Cahaya yang digunakan adalah warna merah (655 nm) agar cahaya diteruskan pada sampel berwarna kuning (sampel *blank*) dan diserap pada sampel yang berwarna hitam (sampel yang mengandung sel). Hasil pengukuran absorbansi dari spektrofotometer merupakan rerata dari 7 kali pengulangan untuk tiap hari waktu perendaman.¹⁴

HASIL

Tabel 1. Nilai rerata dan standar deviasi viabilitas sel pada sampel serat selulosa coir

Kelompok	Rerata (%) ± Standar Deviasi
Kontrol sel	100 ± 0,001
P1	48,64 ± 0,21
P2	57,32 ± 0,19
P3	73,07 ± 0,15
P4	82,69 ± 0,17

Keterangan: P1 = % viabilitas absorbansi perlakuan konsentrasi 100 mg/ml; P2 = % viabilitas absorbansi perlakuan konsentrasi 50 mg/ml; P3 = % viabilitas absorbansi perlakuan konsentrasi 25 mg/ml; P4 = % viabilitas absorbansi perlakuan konsentrasi 12,5 mg/ml



Gambar 3. Grafik rerata kehidupan sel terhadap ekstrak serat selulosa coir, simpang baku dan persentase sel hidup

Penelitian uji viabilitas sel hasil sintesis serat selulosa coir dengan nukleasi etanol absolut diperoleh kehidupan sel paling baik pada konsentrasi 12,5mg/ml sebesar 82,688% terhadap sel *Fibroblas* GT1 (tabel 1). Hasil analisis statistiknya pada pengujian normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji homogenitas varians dengan *Levene test* diperoleh nilai signifikansi $p = 0,011$ ($p < 0,05$) berarti data tidak homogen sehingga dilanjutkan pengujian dengan Uji *Welch & Brown Forsythe* diperoleh nilainya signifikan ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan viabilitas sel atau tidak ada perbedaan toksisitas yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol sel.

Analisis statistiknya dilanjutkan dengan uji *Post hoc Bonferroni* (Tabel 2) untuk kelompok kontrol (sel) dan kelompok perlakuan nilai signifikansi menghasilkan nilai $p > 0,05$ sehingga dapat diartikan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal tersebut berarti kehidupan (viabilitas) sel tidak ada penurunan yang signifikan seiring dengan peningkatan konsentrasi serat selulosa.

Tabel 2. Hasil uji *Post Hoc Bonferroni*

Kelompok Viabilitas	K.Sel	P1	P2	P3	P4
Sel		1,000	1,000	1,000	1,000
P1			1,000	1,000	1,000
P2				1,000	1,000
P3					1,000
P4					

Keterangan: sig. $p < 0.05$; P1 = % viabilitas absorpsi perlakuan konsentrasi 100mg/ml; P2 = % viabilitas absorpsi perlakuan konsentrasi 50mg/ml; P3 = % viabilitas absorpsi perlakuan konsentrasi 25mg/ml; P4 = % viabilitas absorpsi perlakuan konsentrasi 12,5mg/ml

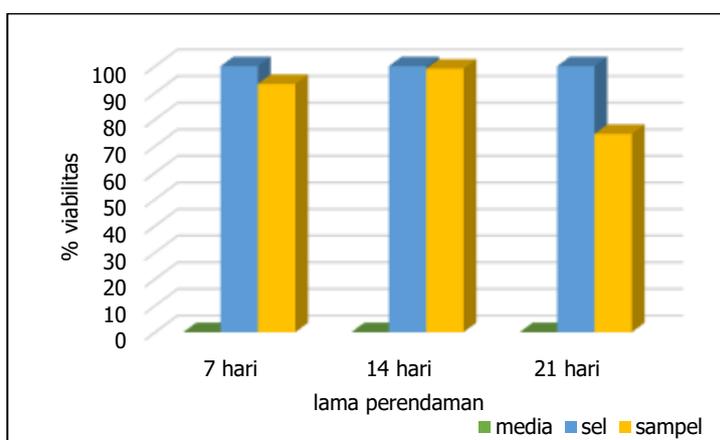
Hasil uji sitotoksitas larutan perendaman komposit serat selulosa coir.

Penelitian uji viabilitas komposit serat selulosa coir diperoleh rerata kehidupan sel pada hasil perendaman komposit selulosa pada 7,14, dan 21 hari sebesar 93,31%, 99,14% dan 74,54% terhadap sel *fibroblast* BHK-21 (Tabel 3 & Gb.4).

Tabel 3. Nilai rerata dan standar deviasi viabilitas sel pada komposit serat selulosa coir

Kelompok	Rerata (%) ±	Standar Deviasi
Kontrol Media	0 ±	0,001
Kontrol Sel	100 ±	0,001
P-7	93,31 ±	0,05
P-14	99,14 ±	0,03
P-21	74,54 ±	0,02

Keterangan: P-7 = Absorpsi perendaman 7 hari, P-14 = Absorpsi perendaman 14 hari, P-21 = Absorpsi perendaman 21 hari



Gambar 4. Diagram batang nilai rerata viabilitas sel pada kelompok komposit selulosa coir dengan waktu perendaman yang berbeda

Uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal signifikansi $p = 0,2$ ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil uji homogenitas varians dengan *Levene test* diperoleh nilai signifikansi $p = 0,01$ ($p < 0,05$) berarti data tidak homogen. Kemudian dilanjutkan uji non parametrik dengan uji *One-way ANOVA* diperoleh $p = 0,001$ (sig. $p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan rerata antar kelompok. Kontrol media menggunakan media eagle, viabilitas sel nya dilihat dari hasil pembacaan berupa tingkat absorpsi atau *optical density*. Semakin tinggi angka *optical density*, menunjukkan jumlah sel *fibroblast* yang hidup semakin banyak.

Tabel 4. Hasil uji hipotesis parametrik *One-way ANOVA*

Variabel	Nilai p
Viabilitas	0,001

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,001$. Nilai tersebut menunjukkan nilai $p < 0,05$ bahwa terdapat perbedaan yang bermakna. Untuk mengetahui perbedaan antara kelompok dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD* sebagai berikut:

Tabel 5. Hasil uji *Post Hoc LSD*

Kelompok (Viabilitas)	K.Media	K.Sel (100)	P-7 (93,31)	P-14(99,14)	P-21(74,54)
K.Sel	0,001				
P-7	0,001	0,471			
P-14	0,001	0,920	0,534		
P-21	0,001	0,009*	0,049*	0,012*	

Keterangan: *Nilai $p < 0,05$

Hasil uji *Post Hoc LSD* memberikan kesimpulan bahwa kelompok P-21 didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan K.Sel, P-7, P-14 dengan nilai $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

Hasil uji viabilitas sel fibroblas pada hasil sintesis serat selulosa coir menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi serat selulosa sabut kelapa semakin meningkat pula persentase kematian *gingival fibroblast cells* (GT1). Hasil analisis statistiknya menunjukkan bahwa kehidupan (viabilitas) sel tidak ada penurunan yang signifikan seiring dengan peningkatan konsentrasi serat selulosa, sehingga dapat ditetapkan bahwa dosis serat selulosa coir paling aman untuk pembuatan komposit sebesar 12,5mg/ml. Perlakuan kimia terhadap serat sintesis selulosa merupakan metode yang paling umum digunakan karena lebih mudah, efisien, cepat dan tidak menggunakan energi terlalu tinggi, namun penggunaan bahan kimia yang berlebihan akan berdampak negatif bagi lingkungan.

Perlakuan dengan senyawa kimia dapat menghasilkan senyawa toksik yang akan menghambat proses hidrolisis polisakarida pada tahap selanjutnya. Terdapat dua metode pengolahan kimia yaitu pelarutan dalam larutan basa atau pelarutan dalam larutan asam. Diantara kedua tipe pelarut, pelarut yang lebih efektif memecah lignin adalah pelarut alkalin.^{15,16,17} Hasil uji viabilitas sel fibroblas BHK-21 pada air rendaman komposit selulosa memperlihatkan adanya penurunan berdasarkan absorbansi MTT dari sel perendaman pada hari ke 21 (74,535%).

Perendaman 7 hari sangat kecil mempengaruhi viabilitas sel (93%), pada perendaman hari ke 14 mampu mempertahankan viabilitas sel tertinggi karena mendekati sel kontrol (99,071%). Terjadi penurunan viabilitas sel pada hari ke 21, tetapi masih dapat mempertahankan viabilitas sel dengan baik karena lebih dari 50% sel mampu bertahan. Dari hasil pengamatan secara *in vitro* ini membuktikan bahwa sampel komposit selulosa coir bersifat tidak toksik karena mampu mempertahankan viabilitas sel. Penurunan bisa disebabkan karena medium yang tersedia semakin berkurang sehingga nutrisi untuk sel bertahan hidup juga berkurang (21 hari).

Faktor tambahan yang menyebabkan sitotoksitas resin komposit adalah proses pelepasan monomer residu, yang merupakan produk sampingan dari proses degradasi matriks resin atau sisa monomer yang tidak terpolimerisasi sempurna.^{18,19} Monomer residu yang telah dilepaskan sulit untuk bereaksi kembali. Komponen resin komposit yang terlepas atau terlarut akan mempengaruhi jaringan lunak rongga mulut, bahkan jika mereka tidak terpolimerisasi sama sekali.^{20,21}

Sifatnya yang *lipostabil*, monomer Bis-GMA dan TEGDMA dapat merusak sel dengan melarutkan lapisan lipid membran sel, mengganggu permeabilitas sel, yang dapat mempengaruhi morfologi sel dan menyebabkan kematian sel. Resin komposit dengan persentase *filler* yang tinggi secara positif mempengaruhi sifat fisiko mekanisnya dan meminimalkan matriks organik, sehingga meningkatkan biokompatibilitas material. Resin komposit dengan persentase monomer bebas yang lebih rendah akan lebih baik dalam hal biokompatibilitas. Komposit selulosa coir ini mengandung *filler* sebesar 70%w/t komponen penting yang memiliki biokompatibilitas yang baik. Inflamasi pada jaringan periodontal di sekitarnya dapat disebabkan oleh pelepasan monomer bebas dan kontak jangka panjang dengan fibroblas gingiva manusia.^{20,21,22}

Banyaknya gugus hidroksil dalam struktur selulosa yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air, ada kemungkinan bahwa selulosa sangat larut dalam air. Selulosa tidak hanya tidak larut dalam air tetapi juga tidak larut dalam pelarut lain. Karena ikatan hidrogen antara gugus hidroksil rantai yang berdekatan, kekuatan dan gaya antar rantai yang tinggi adalah penyebabnya. Diperkirakan bahwa faktor ini bertanggung jawab atas tingkat kekristalan yang tinggi dari serat selulosa. Secara kimia, selulosa merupakan senyawa polisakarida dengan bobot molekul yang tinggi, strukturnya teratur yang merupakan polimer yang linier terdiri dari unit ulangan β -D-*Glukopiranososa*.

Karakteristik selulosa antara lain muncul karena adanya struktur kristalin dan *amorf* serta pembentukan mikrofibril dan fibril yang pada akhirnya menjadi serat selulosa. Serat memiliki sifat alami yaitu hidrofilik, artinya suka terhadap air.^{22,23} Polimer tidak tahan terhadap air, studi tentang bagaimana perlakuan alkali mempengaruhi morfologi permukaan serat selulosa alami menunjukkan bahwa kandungan air dapat dikurangi sehingga sifat hidrofilik serat alami memberikan ikatan interfasi yang ideal dengan matriks.

Kekurangan yang paling mendasar dari komposit serat alam yaitu kurang baiknya ikatan antara matriks dan serat sehingga menghasilkan sifat komposit yang kurang baik sesuai pernyataan pada hasil jurnal review Kumar & Sekaran *et al.*,²⁴ penelitian Fatahi *et al.*,²⁵ dan penelitian Meyabadi *et al.*²⁶ Kekurangan tersebut disebabkan oleh sifat alami serat alam yang masih dapat menyerap air sehingga air dapat masuk ke dalam ikatan antara matriks dan serat, yang mempengaruhi sifat komposit. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk memperbaiki kualitas ikatan yaitu dengan perlakuan kimia terhadap serat alam. Perlakuan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah perlakuan kimiawi yaitu *alkali treatment*.^{15,17}

Resin komposit serat selulosa cair tergolong sebagai material plastik termoset yang merupakan bagian dari material polimer. Polimer sendiri merupakan rantai panjang ikatan karbon-karbon kontinu yang menyisakan dua ikatan valensi utamanya untuk mengikat hidrogen atau bagian hidrokarbon lain yang relatif kecil. Proses *curing* merupakan faktor penting yang berpengaruh pada kualitas dan kinerja resin komposit sebagai bahan restorasi gigi. Kondisi ini terkait dengan fenomena yang dikenal dengan tegangan internal (*internal stress*) atau tegangan sisa (*residual stress*) dan *physical aging* (penuaan) *epoxy termoset*. Dalam rongga mulut tempat komposit serat digunakan, ada air dari saliva dan cairan lainnya. Jika resin komposit terpapar air, hal itu akan berdampak negatif.^{27,28,29}

Air dapat menyebabkan komponen penyusun komposit terlepas dan larut, menghancurkan ikatan polimer matriks-fiber dan mengubah sifat sitotoksitas. Ekspansi oleh karena absorpsi air dari cairan mulut dapat meredakan *stres* polimerisasi, namun sifat ini merupakan proses yang berjalan lambat, jika dibandingkan dengan kontraksi polimerisasi dan terbentuknya *stres*. Pada pengukuran ekspansi higroskopik yang dimulai 15 menit setelah terjadi polimerisasi, umumnya resin membutuhkan 7 hari untuk mencapai *equilibrium* dan sekitar 4 hari untuk menunjukkan ekspansi terbesar.^{29,30,31} Hal ini tampak dari hasil uji viabilitas sel pada perendaman hari ke 7 yang menunjukkan bahwa viabilitas sel nya cukup bagus dan bertahan sampai pada hari ke 14.

Hasil viabilitas sel menunjukkan bahwa ikatan kimia yang terjadi sangat kuat sehingga tidak terjadi pemisahan komponen dari bahan resin komposit selulosa cair tersebut meskipun terjadi absorpsi cairan yang tinggi. Perendaman selama 14 hari menunjukkan viabilitas sel yang lebih tinggi dari perendaman selama 7 hari, hal ini kemungkinan yang terjadi karena komposit yang direndam dalam kelompok yang berbeda-beda.

Hasil dari temuan ini akan kami jadikan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya dengan membuat satu sampel yang diujikan secara berurutan, air rendaman dalam satu sampel diambil pada hari ke 7 kemudian diambil lagi pada hari ke 14 dan selanjutnya pada hari ke 21. Secara umum ada dua mekanisme yang dapat menyebabkan pemisahan komponen dari bahan resin komposit. Mekanisme pertama adalah dari banyak penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa reaksi polimerisasi yang menghasilkan ikatan silang dari monomer resin matriks *dimethacrylate* tidak pernah sempurna dan reaksi yang merugikan disebabkan oleh pelepasan monomer dan polimerisasi. Setelah polimerisasi, monomer dan zat aditif yang tidak terikat tersebut larut pada pelarut seperti air liur dan atau pelarut makanan, terutama selama 24 jam pertama.^{31,32}

Monomer bebas tampaknya secara langsung bertanggung jawab atas sitotoksitas resin komposit pada sel pulpa dan gingiva, serta ada kemungkinan terlibat dalam potensi alergi bahan. Tetapi zat yang dapat larut juga dapat dihasilkan oleh terjadinya erosi dan degradasi dari waktu ke waktu. Degradasi dan erosi resin dapat disebabkan oleh pengaruh cahaya, termal, mekanis, atau kimia yang merupakan mekanisme kedua terjadinya pemisahan komponen resin komposit. Esterase saliva dapat menurunkan permukaan resin komposit, yang kemudian dapat mengakibatkan terlepasnya zat metakrilat atau komponen lain pada resin komposit.^{33,34}

Lingkungan rongga mulut di mana komposit serat diaplikasikan terdiri dari air saliva dan cairan lainnya. Efek negatif terjadi pada resin komposit saat terpapar air. Air dapat menyebabkan komponen penyusun komposit serat terlepas dan larut, menghancurkan ikatan polimer matriks serat dan mengubah sifat sitotoksitas. Konsentrasi penyusun komposit yang lepas dalam air akan meningkat seiring dengan lama perendaman. Kecepatan difusi air dan larutan komponen komposit serat yang terlarut tidak berbanding lurus, akumulasi komponen penyusun komposit serat yang terlarut menyebabkan kematian sel. Setelah mencapai kejenuhan, air diserap lebih cepat daripada komponen terlarut yang lepas.^{32,35,36}

Ikatan oleh *coupling* agen yang baik antara matriks dengan *fiber* menyebabkan penyerapan air menjadi lebih sedikit sehingga komponen penyusun komposit resin serat yang terlarut juga akan kecil. Reaksi kimia yang terjadi pada ketiga molekul pembentuk komposit resin serat sabut kelapa ini akan terjadi ikatan *crossed link* yang mempunyai kestabilan tinggi sehingga material komposit yang terlarut lebih sedikit. Secara umum, penyerapan air dan kelarutan polimer dalam air diharapkan seminimal mungkin sehingga sifat polimer dapat dipertahankan dan tidak ada komponen terlepas yang dapat mempengaruhi biokompatibilitas dari material resin. Hampir semua komponen utama dari resin komposit (Bis-GMA,TEGDMA) bersifat toksik. Suatu bahan dianggap tidak toksik jika ada sel hidup lebih dari 90% atau sel mati kurang dari 10%, dan dianggap toksik ringan jika ada sel hidup 60-90% atau sel mati 10-40%. Pedoman ini juga sesuai dengan ISO 10993, yang menyatakan bahwa bahan dianggap sitotoksik jika viabilitas sel kurang dari 70% atau sel mati lebih dari 30%.^{33,35,36}

SIMPULAN

Peningkatan konsentrasi ekstrak serat sabut kelapa menyebabkan peningkatan persentase kematian sel *gingival fibroblast cells* (GT1) tetapi secara keseluruhan serat selulosa coir yang disintesis dengan alkali *treatment* tidak bersifat toksik terhadap sel fibroblas gingiva. Berdasarkan analisis secara *in vitro* dibuktikan juga bahwa komposit selulosa coir bersifat tidak toksik terbukti dengan pengujian toksisitas yang dilakukan pada air perendaman komposit selulosa di dalam sel fibroblas BHK-21 selama 7,14 dan 21 hari.

Kontribusi Penulis: "Konseptualisasi, C.T.A.; Metodologi; C.T.A.; Validasi: C.T.A.; dan H.H.G.; Analisis formal: H.H.G., Penulisan-penyusunan draft awal: C.T.A.; dan F.P.; Pengabdian; Penulisan-tinjauan dan penyuntingan C.T.A.; dan S.D.; Visualisasi W.H.Y.; dan P.S.; Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar

Pernyataan Persetujuan Etik: Prosedurnya telah disetujui oleh Etika panitia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, sesuai etika izin No. EC/020/KEPK-FKGUHT/IV/2022.

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian akan diberikan sejin semua peneliti melalui email korespondensi dengan memperhatikan etika dalam penelitian

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan antara para penulis

DAFTAR PUSTAKA

- Malik, NAB, Lin SL, Rahman NA, Jamaluddin M. Effect of liners on microleakage in class II composite restoration. *Sains Malaysiana*. 2013; 42(1): 45–51.
- van Dijken JW, Pallesen E. Clinical performance of a hybrid resin composite with and without an intermediate layer of flowable resin composite: a 7-year evaluation. *Dent Mater*. 2011; 27(2): 150-6. DOI: [10.1016/j.dental.2010.09.010](https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.09.010)
- Tjandrawinata R, Wibowo L. Gambaran radiografis restorasi kelas II resin komposit packable, flowable dan pasta regular. *J Mat Ked Gigi*; 2016; 2(5):62-70. DOI: [10.32793/jmkg.v5i2.254](https://doi.org/10.32793/jmkg.v5i2.254)
- Lotfi N, Esmaili B, Ahmadienouz G, Bijani A, Khadem H. Gingival microleakage in class II composite restorations using different flowable composites as liner: an *in vitro* evaluation. *Caspian J Dent Res*. 2015; 4: 10-6.
- Jose M, Cyriac MB, Pai V, Varghese I, Shantaram M. Antimicrobial properties of *Cocos nucifera* (coconut) husk: An extrapolation to oral health. *J Nat Sci Biol Med*. 2014; 5(2): 359-64. DOI: [10.4103/0976-9668.136184](https://doi.org/10.4103/0976-9668.136184)
- Arrohman S, Mustofa ASH, Ariawan D, Diharjo K. Characteristics of mechanical properties of coir-fibre/rubber composite, *J. Phys Conf Ser* 2020; 1511(1): 012065 DOI: [10.1088/1742-6596/1511/1/012065](https://doi.org/10.1088/1742-6596/1511/1/012065)
- Kuan Y-H, Huang F-M, Lee S-S, Li Y-C, Chang Y-C. Bisigma Stimulates Prostaglandin E2 Production in Macrophages via Cyclooxygenase-2, Cytosolic Phospholipase A2, and Mitogen-Activated Protein Kinases Family. *PLoS ONE*. 2013; 8(12): e82942. DOI: [10.1371/journal.pone.0082942](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082942)
- ISO 7405 Dentistry-Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. International Organization for Standardization, Geneva. 2018.
- Loreto C, La Rocca G, Anzalone R, Caltabiano R, Vespasiani G, Castorina S, Ralph DJ, et al. The role of intrinsic pathway in apoptosis activation and progression in Peyronie's disease. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 616149. DOI: [10.1155/2014/616149](https://doi.org/10.1155/2014/616149)
- Kurniawati Y. Kultur Primer Fibroblas: Penelitian Pendahuluan. *Maj Ked Andalas*. 2015; 38(1): 33-40. DOI: [10.22338/mka.v38.i1.p33-40.2015](https://doi.org/10.22338/mka.v38.i1.p33-40.2015)
- Cevanti TA, Rois MF, Sari NSP, Isnaini SI, Sasono SRA, Firdaus GMB, Setyawan H, dkk. Synthesis of Cellulose Fiber from Coconut Coir as Potential Application of Dental Flowable Composite Filler. *J Internat Dent Medic Res*. 2022; 15(2): p, 618-22.
- Dahlan M. Besar sampel dan cara pengambilan sampel dalam penelitian kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Penerbit Salemba Medika. 2018
- Chen C, Wu J, Weir MD, Wang L, Zhou X, Xu HHK, Melo MAS. Dental Composite Formulation Design with Bioactivity on Protein Adsorption Combined with Crack-Healing Capability. *J Funct Biomater*. 2017; 8(3): 40. DOI: [10.3390/jfb8030040](https://doi.org/10.3390/jfb8030040)
- Kumar KP, Sekaran ASJ. Some Natural fibers used in polymer composites and their extraction processes : A review. *J reinforced plastics & composites* 2014, 2017; 33(20): p, 1879-92

15. Kruse CR, Singh M, Targosinski S, Sinha I, Sørensen JA, Eriksson E, Nuutila K. The effect of pH on cell viability, cell migration, cell proliferation, wound closure, and wound reepithelialization: In vitro and in vivo study. *Wound Repair and Regeneration*. 2017; 25(2) :260-9. DOI: [10.1111/wrr.12526](https://doi.org/10.1111/wrr.12526)
16. Bayot ML, Bragg BN. Antimicrobial Susceptibility Testing. [Updated 2022 Oct 1 0]. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539714/>
17. Mulyadi I. Isolasi dan Karakterisasi Selulosa: Review. 2019; 1(2): p, 1-6.
18. Nurnasari E, Nurindah. Karakteristik Kimia Serat Buah, Serat Batang, dan Serat Daun Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri. 2017; 9(2): 64–72. DOI: [10.21082/btsm.v9n2.2017.64-72](https://doi.org/10.21082/btsm.v9n2.2017.64-72)
19. Arsyad M, Salam A. Analisis Pengaruh Konsentrasi Larutan Alkali Terhadap Perubahan Diameter Serat Sabut Kelapa. *J INTEK*. 2017; 4(1): 10-13. DOI: [10.31963/intek.v4i1.90](https://doi.org/10.31963/intek.v4i1.90)
20. Salehi S, Gwinner F, Mitchell JC, Pfeifer C, Ferracane JL. Cytotoxicity of resin composites containing bioactive glass fillers. *Dent Mater*. 2015; 31(2): 195-203. DOI: [10.1016/j.dental.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.12.004)
21. Kamalak H, Kamalak A, Taghizadehghalehjoughi A, Hacımüftüoğlu A, Nalci KA. Cytotoxic and biological effects of bulk fill composites on rat cortical neuron cells. *Odontology*. 2018; 106(4): 377-88. DOI: [10.1007/s10266-018-0354-5](https://doi.org/10.1007/s10266-018-0354-5)
22. Harahap KI, Agusnas H, Sastrodihardjo S. Perbedaan penyerapan air ke dalam resin komposit mikrohibrid dan nanohibrid setelah direndam di dalam saliva buatan. *Dent Dent J*. 2013;17(4): 319–323. DOI: [10.32734/dentika.v17i4.1780](https://doi.org/10.32734/dentika.v17i4.1780)
23. Beltrami R, Colombo M, Rizzo K, Di Cristofaro A, Poggio C, Pietrococola G. Cytotoxicity of different composite resins on human gingival fibroblast cell lines. *Biomimetics*. 2021; 6(26): 1–8. DOI: [10.3390/biomimetics6020026](https://doi.org/10.3390/biomimetics6020026)
24. Kumar S, Lal S, Jagdeva G, Arora S, Kumar P, Soni R, et al. Performance-based natural rubber composites reinforced with jute fibers and nano-silica: thermal, morphological, and mechanical studies with statistical optimization. *Iranian Polymer J*. 2023; 32(5): 1-11 DOI: [10.1007/s13726-023-01148-x](https://doi.org/10.1007/s13726-023-01148-x)
25. Fattahi Meyabadi T, Dadashian F, Mir Mohamad Sadeghi G, Ebrahimi Zanjani Asi H. Spherical cellulose nanoparticles preparation from waste cotton using a green method. *Powder Technology* 261: 232–240. DOI: [10.1016/j.powtec.2014.04.039](https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.04.039)
26. Meyabadi TF, Dadashian F, Sadeghi GM, Hamid Ebrahimi Zanjani HE. Spherical cellulose nanoparticles preparation from waste cotton using a green method . *Powder Technology*. 2014; 261: 232–40. DOI: [10.1016/j.powtec.2014.04.039](https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.04.039)
27. Al-Shekhli AAR, Aubi IAI. Solubility of Nanofilled Versus Conventional Composites. *Pakistan Oral Dent J*. 2014; 34(1): p, 118–21.
28. Oroh J, Sappu FP, Lumintang R. Analisis sifat mekanik material komposit dari serat sabut kelapa. *J online poros Teknik mesin unsrat*; 2012;1(1):p, 1-10.
29. Craig RG, Powers JM. *Restorative dental materials*. 14th Ed. Elsevier: Mosby,. 2018.
30. Soares CJ, Faria-E-Silva AL, Rodrigues MP, Vilela ABF, Pfeifer CS, Tantbirojn D, Versluis A. Polymerization shrinkage stress of composite resins and resin cements - What do we need to know? *Braz Oral Res*. 2017; 31(suppl 1): e62. DOI: [10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0062](https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0062)
31. Sakaguchi R, Ferracane J, Powers J, Craig's Restorative Dental Materials. 14th Ed. St, Louis: Mosby. 2018: p, 90-207, 217-23.
32. Mittal KL, Etzler FM. *Adhesion in Pharmaceutical, Biomedical and Dental Fields*. 1st Ed. Wiley Global Headquarters 111 River Street, Hoboken, NJ 07030, USA. 2017.p. 1-573.
33. Septiwdiyati TR, Auerkari E. Genotoxin effect of composite resin. *Indonesian J Legal and rensic Scie* 2019;1(1):8-18 DOI: [10.24843/IJLFS.2019.v09.i01.p02](https://doi.org/10.24843/IJLFS.2019.v09.i01.p02)
34. Schmalz G, Galler KM. Biocompatibility of biomaterials – lessons learned and considerations for the design of novel materials. *Dent Mater*. 2017;33(4):382–393. DOI: [10.1016/j.dental.2017.01.011](https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.01.011)
35. Ma'ruf MT, Siswomohardjo W, Saesetyo MH, Tontowi AE. Uji biokompatibilitas komposit polivinil alkohol hidroksiapatit dengan penguat catgut sebagai bahan penyambung patah tulang. *J Teknosains*. 2013; 3(1): 51-65. DOI: [10.22146/teknosains.6128](https://doi.org/10.22146/teknosains.6128)
36. Harsini H, Hertama FN. Pengaruh variasi konsentrasi ekstrak kulit batang jambu mete terhadap sitotoksikitas sel fibroblas. 2017; 2(1): 6-12. DOI: [10.22146/maikedgiind.10730](https://doi.org/10.22146/maikedgiind.10730)