

Efek Antibiofilm Glass Ionomer Cements dan Resin Modified Glass Ionomer Cements Terhadap *Lactobacillus acidophilus* (Penelitian Eksperimental Laboratoris)

(Antibiofilm Effects of Glass Ionomer Cements and Resin Modified Glass Ionomer Cements on *Lactobacillus acidophilus*)

Elsandra Novita Halim*, Karlina Samadi**, Sri Kunarti**

ABSTRACT

Background: Risk factors for developing secondary caries are similar to those resulting in primary caries. The marginal seal of a restoration is one of the important factors predicting clinical success. The antibiofilm effect of materials used for the luting cement of oral function affects oral health. Antibiofilm properties of dental luting materials such as Glass Ionomer Cement (GIC) and Resin Modified Glass Ionomer Cement (RMGIC) may improve the restorative treatment outcome. **Purpose:** This experiment evaluates the antibiofilm effect of GIC and RMGIC on *Lactobacillus acidophilus* in vitro. **Method:** *Lactobacillus acidophilus* served as test microorganism. The quantitative microtiter plate biofilm assays were used to evaluate the antibiofilm effect of the dental luting materials on early-stage biofilm using a direct contact test (DCT) then continued by reading of Optical Density (OD) of biofilm using ELISA reader at a wavelength of 570nm. **Result:** GIC and RMGIC showed a decrease of OD value from negative control in all groups. The materials' elute had effect on both bacterial growth with GIC higher than RMGIC to inhibit *Lactobacillus acidophilus* biofilm formation. **Conclusion:** The antibiofilm effect of GIC more effective than RMGIC to inhibit *Lactobacillus acidophilus* biofilm formation.

Keyword: Secondary caries, GIC, RMGIC, *Lactobacillus acidophilus*, antibiofilm effect

PENDAHULUAN

Karies sekunder adalah masalah utama yang disebabkan oleh bakteri rongga mulut pada restorasi gigi, yang terutama seringkali berkembang di tepi mahkota gigi tiruan yang bocor atau tepi restorasi yang kurang baik¹. Bakteri dalam rongga mulut hidup dalam bentuk biofilm (plak gigi) yang merupakan mekanisme pertahanan hidup bakteri². Salah satu spesies bakteri yang dapat diisolasi dari plak gigi adalah *Lactobacillus acidophilus* yang dapat menginduksi terjadinya karies sekunder³. *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir fermentasi karbohidrat⁴. Bakteri tersebut berperan dalam metabolisme glukosa di rongga mulut yaitu dengan menghasilkan asam organik yang menurunkan pH rongga mulut hingga kurang dari 5. Rendahnya pH ini akan menyebabkan terjadinya dekalsifikasi mineral gigi⁵.

Secara umum titik awal untuk kolonisasi bakteri adalah ketidakteraturan pada permukaan gigi. Permukaan yang tidak teratur memberikan resistensi yang tinggi terhadap kekuatan geser dan bakteri dapat berkembang biak. Adanya celah antara bahan kedokteran gigi dan gigi memudahkan mikroorganisme berkolonisasi³. Aksi biofilm kariogenik di celah restorasi dapat menyebabkan karies sekunder⁶.

Antibiofilm adalah suatu sifat yang dimiliki substansi kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan akumulasi biofilm bakteri. Sebagian besar bahan antibiofilm berpengaruh pada pengurangan biofilm bakteri atau menghambat aktivitas mikrobiahnya⁷.

Fluor pada konsentrasi serendah 0,53 mM dapat memberi efek antimikroba halus dalam komunitas mikroba dalam biofilm dengan mengurangi tingkat dan laju produksi asam (dalam hal [H⁺]), sehingga mengurangi kekuatan pendorong utama spesies kariogenik dan toleran asam, seperti

*Streptococcus mutans*⁸. Fluor yang dilepaskan oleh *Glass Ionomer Cement* (GIC) dapat menurunkan demineralisasi karies pada tepi restorasi sebagai upaya untuk memperoleh sifat antikariogenik dan antibakteri. Efek antibakteri yang paling penting dari fluor adalah kemampuannya untuk mengganggu metabolisme bakteri. GIC memiliki beberapa kekurangan berkaitan dengan sifat fisiknya seperti kekuatan lentur, estetika, dan permukaan poles tetapi GIC memiliki satu keuntungan yang menonjol yaitu pelepasan fluor selama periode waktu yang panjang⁹. Karakteristik ini membuat GIC populer sebagai *dental luting* karena fluor dapat menghambat demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi jaringan keras gigi¹.

Pelepasan fluor dari GIC paling tinggi pada 24 jam pertama perlakuan dan akan menurun hingga mencapai level konstan sekitar 14 hari¹⁰. Hal ini juga didukung oleh peneliti lain yang menyatakan bahwa nilai pelepasan fluor pada GIC dan RMGIC paling tinggi terjadi pada hari pertama, kemudian mengalami penurunan secara cepat pada hari ke 7, 14, dan 28 dan perlahan-lahan menurun sampai mencapai level konstan pelepasannya¹¹.

GIC memiliki beberapa kekurangan berkaitan dengan sifat fisiknya sehingga resin dalam bentuk *hydroxyethylmethacrylate* (HEMA) ditambahkan dalam campuran GIC. Bahan kedokteran gigi ini dikenal sebagai *Resin Modified Glass Ionomer Cement* (RMGIC). Resin membuat semen ini lebih kuat, lebih mudah dipoles, dan lebih tidak mudah aus. Resin juga melindungi semen ini dari paparan kelembaban setelah terpolimerisasi. Hal tersebut membuat RMGIC tidak mudah larut dan memiliki kekuatan yang baik sejak awal. RMGIC juga melepaskan fluor, bertindak sebagai *fluoride reservoir*, dan memiliki ekspansi termal yang mirip dengan gigi. Penggunaan klinis RMGIC sama

dengan GIC yaitu dapat sebagai *dental luting*¹².

Meskipun GIC dan RMGIC sama-sama melepaskan fluor, terdapat perbedaan pendapat dari beberapa literatur mengenai besarnya fluor yang dilepaskan oleh masing-masing bahan. Besarnya kemampuan suatu bahan untuk melepaskan fluor akan berpengaruh terhadap efek antibiofilmnya.

Tidak menutup kemungkinan bahwa GIC dan RMGIC memiliki efek antibiofilm yang berasal dari pelepasan fluor kedua bahan tetapi apakah pembentukan biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat terganggu dengan kehadiran fluor masih belum jelas. Kekurangan sumber informasi penelitian mengenai hal tersebut menjadi salah satu alasan dilakukan penelitian ini. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibiofilm *Glass Ionomer Cements* maupun *Resin Modified Glass Ionomer Cement* terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian adalah *eksperimental laboratoris* dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*.

Sampel Penelitian

Sampel GIC dan RMGIC berbentuk silinder dengan diameter 5 mm, tinggi 2 mm, dan berat 0,07gr (\pm 0,03gr). Kriteria sampel GIC dan RMGIC rata dan halus. Bentuk sampel bakteri *L.acidophilus* berupa suspensi bakteri dengan kriteria sampel bakteri *L.acidophilus* dibiakkan dengan menggunakan *MRS Broth* (MRSB) dalam tabung reaksi selama 1x24 jam.

Pembagian kelompok sampel:

a. Kelompok I (Kontrol negatif): Bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang dibiakkan dengan menggunakan *MRSBroth* (MRSB) dalam tabung reaksi yang berisi MRSB glukosa.

b. Kelompok II: GIC yang ditetesi suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada hari ke-1, 7, dan 14.

c. Kelompok III: yaitu RMGIC yang ditetesi suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada hari ke-1, 7, 14.

Besar sampel yang digunakan tiap-tiap kelompok adalah sebesar 8 perlakuan sehingga total sampel yang digunakan sebesar 48 perlakuan.

Proses Pembuatan Sampel

a. Sampel kelompok I (GIC)

GIC yang digunakan adalah merk Shofu. Bubuk (2g) dan cairan (1g) GIC ditimbang dengan timbangan Sartorius kemudian diaduk dengan *flat-ended dental spatula* selama 30 detik pada *paper mixing pad* kemudian cetakan plastik disiapkan dan diletakkan diatas *glass slab*. Campuran yang didapat dimasukkan ke dalam cetakan plastik diameter 5 mm dan tinggi 2 mm dengan *flat-ended dental spatula* sampai penuh, dan kemudian untuk menyamakan tekanannya bagian atas cetakan plastik diberi *glass slab* lainnya dan anak timbangan seberat 1 kg kemudian dibiarkan sampai setting selama 4 menit. Setelah campuran GIC mengeras, dikeluarkan dari cetakan plastik menggunakan *flat-ended dental spatula*. Kelebihan tumpatan dibuang dengan pisau model. Sampel disimpan dalam *petri dish* dan siap dilakukan uji hambat pembentukan biofilm.

b. Sampel kelompok II (RMGIC)

RMGIC yang digunakan adalah merk Riva. Bubuk (2,5g) dan cairan (1g) RMGIC ditimbang dengan timbangan Sartorius kemudian diaduk dengan *flat-ended dental spatula* selama 20 detik pada *paper mixing pad* kemudian cetakan plastik disiapkan dan diletakkan diatas *glass slab*. Campuran yang didapat dimasukkan ke dalam cetakan plastik diameter 5 mm dan tinggi 2 mm

dengan *flat-ended dental spatula* sampai penuh, dan kemudian untuk menyamakan tekanannya bagian atas cetakan plastik diberi glass slab lainnya dan anak timbangan seberat 1 kg kemudian dibiarkan sampai setting selama 4 menit 30 detik. Setelah campuran RMGIC mengeras, dikeluarkan dari cetakan plastik menggunakan *flat-ended dental spatula*. Kelebihan tumpatan dibuang dengan pisau model. Sampel disimpan dalam *petri dish* dan siap dilakukan uji hambat pembentukan biofilm.

Proses Pematangan Sampel¹³

96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate diposisikan vertikal kemudian sebagai perantara perekat antara *well* dengan sampel, bubuk dan cairan sampel diaduk pada *paper mixing pad*. $\pm 0,01$ gr campuran yang didapat diaplikasikan pada dinding *well* menggunakan spatula dental berujung datar. Sebelum campuran GIC/RMGIC (sebagai perantara perekat) *setting*, sampel diletakkan di atas GIC/RMGIC tersebut menggunakan pinset. Hal ini bertujuan supaya sampel tetap berada dalam posisi yang diinginkan. Perantara perekat dibiarkan *setting* menurut waktu *setting*nya (GIC 4 menit, RMGIC 4 menit 30 detik). *96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate* yang berisi sampel diisi dengan 250 μ l *phosphate-buffered saline* (PBS) dan diganti setiap 48 jam sampai pada hari akan dilakukan uji hambat pembentukan biofilm *L. acidophilus* yaitu hari ke-7 dan ke-14. Sebelum memulai uji hambat pembentukan biofilm *L. acidophilus*, PBS diaspirasi terlebih dahulu dan *plate* dikeringkan dalam kondisi steril.

Uji Hambat pembentukan Biofilm *L. acidophilus*¹³

Bakteri *L. acidophilus* dikultur selama semalam pada MRSB kemudian divortex dan diukur OD nya dengan spektrofotometer 600nm dan didapat

konsentrasi bakteri *L. acidophilus* 10^8 bakteri/ml. Kemudian kultur bakteri diencerkan 100x pada MRSB agar konsentrasi bakteri menjadi 10^6 bakteri/ml. Sebanyak 0,1 ml *L. acidophilus* dengan konsentrasi 10^6 bakteri/ml diisikan di permukaan sampel pada *96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate*. *Mikrotiter plate* diinkubasi dalam posisi vertikal selama 1 jam pada suhu 37°C supaya cairan suspensi menguap sehingga terjadi kontak langsung antara semua bakteri dengan permukaan sampel. *Mikrotiter plate* diberi 220 μ L MRSB glukosa dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian isi dari tiap *mikrotiter plate* diaspirasi dan dicuci 3 kali dengan 0,2 mL PBS dengan pH 7,2 menggunakan pipet. Biofilm yang menempel pada *well* dicat dengan *crystal violet* kemudian dilakukan pembilasan dengan menggunakan *aquadest* dan dikeringkan. Untuk menganalisis secara kuantitatif pembentukan biofilm, ditambahkan 0,2 ml dari isopropanol di setiap *well* kemudian dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) pada 570 nm menggunakan *ELISA Reader*. Prosedur ini diulang sebanyak 8 kali dan dilakukan juga pada hari ke-7 dan ke-14 setelah perendaman di dalam PBS.

Untuk kebutuhan inferensial, maka data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dianalisa dengan uji statistik, yaitu: uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* ($p \geq 0,05$), uji homogenitas menggunakan *Levene test* ($p \geq 0,05$), dan uji beda dengan menggunakan *one-way Anova* dan *LSD (Least Square Differences)*. Data dikatakan tidak ada beda bila $p > 0,05$ dan ada beda bila $p < 0,05$.

HASIL

Dari hasil penelitian mengenai efek antibiofilm GIC dan RMGIC terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*

didapatkan hasil seperti pada tabel dibawah ini

Tabel 1. Hasil rerata dan standar deviasi nilai OD pembentukan biofilm *L. acidophilus*

Kelompok	Jumlah Sampel	Rerata	± Standar Deviasi
Kontrol negatif	8	2.0546	0.55630
GIC 1	8	0.3801	0.25457
RMGIC 1	8	1.0146	0.39120
GIC 7	8	0.6228	0.35103
RMGIC 7	8	1.1354	0.63005
GIC 14	8	1.2829	0.42201
RMGIC 14	8	1.8366	0.70633

Perbedaan hari pada GIC dan RMGIC yang digunakan pada penelitian ini adalah hari 1, 7, dan 14. Penggunaan perbedaan hari ini dimaksudkan untuk melihat efek antibiofilm GIC dan RMGIC terhadap *L.acidophilus* pada hari tertentu karena belum pernah dilakukan penelitian sebelumnya. Pengamatan efek antibiofilm *L.acidophilus* dari GIC dan RMGIC dibaca menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 570nm dan dinyatakan dalam satuan *Optical Density* (OD) (Tabel 1).

Hasil Uji Beda Antar Kelompok GIC dan RMGIC

Untuk mengetahui uji beda antar kelompok GIC dan RMGIC pada masing-masing hari, dilakukan uji *one way Anova* dan LSD. Hasil uji analisis antar kelompok GIC dan RMGIC adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Nilai signifikansi uji beda antar kelompok bahan GIC dan RMGIC pada hari ke-1

Kelompok	GIC	RMGIC
Kontrol	0,000*	0,000*
GIC	-	0,006*

*=p< 0,05 = terdapat perbedaan yang bermakna

Tabel 3. Nilai signifikansi uji beda antar kelompok bahan GIC dan RMGIC pada hari ke-7

Kelompok	GIC	RMGIC
Kontrol	0,000*	0,002*
GIC	-	0,065

*=p< 0,05 = terdapat perbedaan yang bermakna

Tabel 4. Nilai signifikansi uji beda antar kelompok bahan GIC dan RMGIC pada hari ke-14

Kelompok	GIC	RMGIC
Kontrol	0,014*	0,456
GIC	-	0,067

*=p< 0,05 = terdapat perbedaan yang bermakna

Hasil analisis uji beda kelompok kontrol, GIC, dan RMGIC pada hari ke-1 mempunyai nilai p<0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol, GIC, dan RMGIC pada hari ke-1. Hasil analisis uji beda kelompok GIC dan RMGIC pada hari ke-1 mempunyai nilai p<0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok GIC dan RMGIC pada hari ke-1. Pada hari ke-7 hasil analisis uji beda kelompok kontrol, GIC, dan RMGIC mempunyai p<0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol, GIC, dan RMGIC pada hari ke-7 tetapi untuk kelompok GIC dan RMGIC pada hari ke-7 mempunyai nilai 0,065 (p>0,05) yang berarti kelompok GIC pada hari ke-7 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok RMGIC. Sedangkan pada hari ke-14 hasil analisis uji beda kelompok kontrol dan RMGIC mempunyai nilai p<0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan GIC pada hari ke-14 tetapi untuk kelompok kontrol dan RMGIC pada hari ke-14 mempunyai nilai 0,456 (p>0,05) yang berarti kelompok kontrol pada hari ke-14 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok RMGIC. Demikian juga dengan kelompok GIC dan RMGIC pada hari ke-14

mempunyai nilai 0,067 ($p > 0,05$) yang berarti kelompok GIC pada hari ke-14 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok RMGIC.

Hasil Uji Beda Antar Kelompok GIC

Untuk mengetahui uji beda antar kelompok GIC pada masing-masing hari, dilakukan uji *one way Anova* dan *LSD*. Hasil uji analisis antar kelompok GIC adalah sebagai berikut:

Tabel 5. Nilai Signifikansi Uji Beda Antar Kelompok Bahan GIC pada Masing-masing Hari

Kelompok	GIC hari ke-1	GIC hari ke-7	GIC hari ke-14
Kontrol	0,000*	0,000*	0,001*
GIC hari ke-1	-	0,248	0,000*
GIC hari ke-7		-	0,003*

* $p < 0,05$ = terdapat perbedaan yang bermakna

Hasil analisis uji beda kelompok kontrol dan GIC pada hari ke-1, 7, dan 14 mempunyai nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan GIC pada hari ke-1, 7, dan 14. Hasil analisis uji beda kelompok GIC pada hari ke-1 dan ke-7 mempunyai nilai 0,248 ($p > 0,05$) yang berarti kelompok GIC pada hari ke-1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok GIC pada hari ke-7 tetapi untuk kelompok GIC pada hari ke-1 dan GIC pada hari ke-14 mempunyai nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok GIC pada hari ke-1 dan ke-14. Demikian juga dengan kelompok GIC pada hari ke-7 dan ke-14 mempunyai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok GIC pada hari ke-7 dan ke-14.

Hasil Uji Beda Antar Kelompok RMGIC

Untuk mengetahui uji beda antar kelompok RMGIC pada masing-masing

hari, dilakukan uji *one way Anova* dan *LSD*. Hasil uji analisis antar kelompok RMGIC adalah sebagai berikut:

Tabel 6. Nilai Signifikansi Uji Beda Antar Kelompok Bahan RMGIC pada Masing-masing Hari

Kelompok	RMGIC hari ke-1	RMGIC hari ke-7	RMGIC hari ke-14
Kontrol	0,001*	0,004*	0,461
RMGIC hari ke-1	-	0,682	0,009*
RMGIC hari ke-7		-	0,023*

* $p < 0,05$ = terdapat perbedaan yang bermakna

Hasil analisis uji beda kelompok kontrol dan RMGIC pada hari ke-1 dan ke-7 mempunyai nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan RMGIC pada hari ke-1 dan ke-7 tetapi hasil analisis uji beda kelompok kontrol dan RMGIC pada hari ke-14 mempunyai nilai 0,461 ($p > 0,05$) yang berarti kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok RMGIC pada hari ke-14. Hasil analisis uji beda kelompok RMGIC pada hari ke-1 dan ke-7 mempunyai nilai 0,682 ($p > 0,05$) yang berarti kelompok RMGIC pada hari ke-1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok RMGIC pada hari ke-7 tetapi untuk kelompok RMGIC pada hari ke-1 dan RMGIC pada hari ke-14 mempunyai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok RMGIC pada hari ke-1 dan ke-14. Demikian juga dengan kelompok RMGIC pada hari ke-7 dan ke-14 mempunyai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok RMGIC pada hari ke-7 dan ke-14.

DISKUSI

Pelepasan fluor dari GIC ke lingkungan *aqueous* dapat terjadi melalui dua mekanisme. Pertama, mekanisme reaksi jangka pendek yang melibatkan disolusi cepat dari permukaan luar semen GIC ke dalam larutan¹⁴. Disolusi dari semen yang

belum matang terjadi sebelum pengerasan akhir dari material yaitu 24 jam pertama¹⁵. Kedua, mekanisme yang terjadi lebih bertahap (reaksi jangka panjang) dan mengakibatkan difusi ion fluor yang terus menerus melalui bongkahan semen GIC. Awal pelepasan fluor dari GIC terjadi pada 24 jam pertama kemungkinan disebabkan oleh ledakan fluor (*burst effect*) yang dilepaskan oleh partikel kaca ketika bereaksi dengan asam *polyalkenoate* melalui reaksi asam-basa¹⁴.

GIC memiliki beberapa kekurangan berkaitan dengan sifat fisiknya berupa sensitivitas yang tinggi terhadap kelembaban selama 24 jam pertama penempatan bahan dan juga tingkat keausan yang cukup tinggi. Hal tersebut membuat GIC lebih mudah larut dan menyebabkan terjadinya lebih banyak pelepasan ion fluor ke lingkungan sekitarnya¹². Pelepasan ion fluor akan menghambat pembentukan biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus* melalui 2 tahap yaitu inhibisi berbagai enzim bakteri dan peran fluor sebagai pembawa proton transmembran dengan peningkatan permeabilitas proton membran sel dengan bertindak dalam bentuk HF yang membawa ΔpH melintasi membran sel. Jalur yang terakhir adalah tindakan utama yang menyebabkan penghambatan produksi asam oleh sel bakteri pada pH rendah dalam biofilm¹⁶.

Tindakan fluor akan menghambat ekstrusi proton oleh F-ATPase dengan membawa proton yang diekskresikan kembali ke sel melalui gerakan HF, dimana sel 10^7 kali lebih permeabel daripada F^- ¹⁶. Setelah HF berada dalam sitoplasma yang relatif basa, HF menjadi bentuk ion, F^- dan H^+ , yang bertindak untuk mengasamkan sitoplasma dan menghambat enzim glikolitik. Penurunan ΔpH oleh fluor menekan status energik sel, karena dengan peningkatan masuknya kembali proton melintasi membran sel, menambah

kebutuhan ATP untuk regulasi asam-basa. Hasil akhirnya adalah sama dengan pengasaman atau kelaparan tekanan pada sel (*starvation stress*)¹⁷. Hal ini akan menyebabkan penurunan aktivitas fisiologi bakteri. Pengasaman sitoplasma yang disebabkan oleh fluor akan mengganggu produksi asam glikolitik, pembentukan dan katabolisme polisakarida iodophilic intraseluler (IPS)¹⁶ yang akan menghambat pertumbuhan bakteri dan mengurangi biofilm *Lactobacillus acidophilus*.

Semakin banyak fluor yang dilepaskan oleh suatu bahan, daya hambat pertumbuhan atau membunuh bakteri lebih maksimal karena proses inhibisi enzim bakteri sehingga mengganggu integritas membran sel bakteri. Proses inhibisi enzim bakteri oleh fluor menyebabkan viskositas bakteri berkurang dan ikatan EPS menjadi berkurang sehingga jumlah biofilm yang terbentuk menjadi berkurang pula.

Pelepasan fluor dari RMGIC memiliki mekanisme yang sama dengan GIC¹⁸. RMGIC memiliki reaksi polimerisasi HEMA dan reaksi asam-basa yang terjadi secara bersamaan¹⁹. Reaksi pengerasan awal RMGIC ditimbulkan oleh polimerisasi HEMA menyebabkan semen RMGIC lebih terlindungi dari paparan kelembaban²⁰. Hal ini membuat RMGIC lebih tidak mudah larut dan memberi kekuatan awal pada material ini¹² sehingga dengan tidak mudah larutnya semen RMGIC, proses disolusi permukaan semen menjadi berkurang dan pelepasan fluor menjadi tidak sebanyak seperti pada GIC. Reaksi asam-basa yang lambat bertanggungjawab untuk proses pematangan semen dan kekuatan akhir²⁰. Selama proses pematangan akhir, ion fluor tidak termasuk dalam struktur matrik dan ion fluor memiliki ukuran dan mobilitas yang kurang lebih sama dengan ion hidroksil sehingga difusi ion fluor dengan lingkungan sekitarnya dapat terjadi terus menerus melalui bongkahan semen RMGIC²¹.

Hasil analisis uji beda kelompok GIC dan RMGIC pada hari ke-7 tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini berarti bahwa GIC dan RMGIC pada hari ke-7 mempunyai efek antibiofilm yang sama besar terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir fermentasi karbohidrat⁴ sehingga pH plak akan menurun sampai dibawah 5 (kondisi asam) dalam waktu 1-3 menit⁵. Dalam kondisi asam, proses disolusi semen lebih dominan daripada proses difusi sehingga menyebabkan pelepasan fluor yang lebih besar untuk setiap bahan yang berada di bawah kondisi ini. Dalam kondisi asam pelepasan fluor dari GIC secara signifikan lebih besar daripada RMGIC. Hal ini menunjukkan bahwa proses difusi mendominasi pada RMGIC sedangkan proses disolusi mendominasi GIC. Dalam kondisi asam, pelepasan fluor pada GIC paling besar. Hal ini disebabkan oleh senyawa fluor yang dikelilingi oleh fase matriks labil GIC relatif larut. Selain itu, pembentukan biofilm pada GIC dan RMGIC juga berpengaruh terhadap keseimbangan mekanisme difusi daripada mekanisme disolusi yang merupakan mekanisme dominan untuk pelepasan fluor. Biofilm tidak menghambat difusi sebanyak disolusi dan karenanya pada RMGIC lebih signifikan melepaskan fluor daripada GIC yang disolusi permukaannya dihambat oleh biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus*²².

Pada hari ke-7, pelepasan fluor pada GIC maupun RMGIC sudah berkurang¹¹. Dengan keberadaan asam seharusnya GIC pada hari ke-7 melepaskan fluor lebih banyak daripada RMGIC pada hari yang sama karena asam menyebabkan disolusi permukaan GIC. Tetapi hal tersebut tidak terjadi karena disolusi dari GIC terhalang oleh pembentukan biofilm bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada

permukaannya sehingga pelepasan fluor hanya didominasi oleh proses difusi tetapi fluor yang dilepaskan pada proses difusi jumlahnya mungkin sangat kecil sehingga memberikan efek antibiofilm yang tidak jauh berbeda dengan RMGIC pada hari ke-7.

Pada kelompok GIC dan RMGIC hari ke-14 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna disebabkan pelepasan fluor pada hari ke-14 sudah mencapai level konstan sehingga baik GIC maupun RMGIC memberikan efek antibiofilm yang sama besar terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada hari ke-14. Hal tersebut didukung oleh banyak penelitian yang melaporkan bahwa pelepasan fluor dari GIC paling tinggi pada 24 jam pertama perlakuan dan akan menurun hingga mencapai level konstan sekitar 14 hari¹⁰. Hal ini dibuktikan oleh banyak peneliti lainnya²³ yang meneliti pelepasan fluor dari beberapa merk GIC dalam periode waktu 1, 7, 14, 21, dan 28 hari dan didapatkan hasil bahwa jumlah pelepasan fluor semua merk GIC paling tinggi pada hari pertama kemudian diikuti penurunan jumlah pelepasan fluor pada hari-hari berikutnya sampai pada hari ke 28. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa nilai pelepasan fluor pada GIC dan RMGIC paling tinggi terjadi pada hari pertama, kemudian mengalami penurunan secara cepat pada hari ke 7, 14, dan 28 dan perlahan-lahan menurun sampai fluor mencapai level konstan pelepasannya¹¹.

Hasil analisis uji beda kelompok GIC pada hari ke-1 dan ke-7 tidak memiliki perbedaan yang bermakna tetapi berdasarkan rata-rata OD, GIC hari ke-1 memiliki OD yang lebih kecil daripada GIC hari ke-7 tetapi karena selisih nilai ODnya kecil, secara analisis uji beda dianggap tidak ada perbedaan bermakna sehingga dapat dikatakan efek antibiofilm GIC hari ke-1

sama besar dengan GIC hari ke-7 terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Proses pelepasan fluor adalah proses yang kompleks. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa variabel intrinsik dan eksperimental, seperti bahan kimia (reaksi pengaturan dan pembentukan lapisan hidrogel), kandungan fluor dalam komposisi, kondisi lingkungan (pH dan suhu)²⁴, komposisi matriks resin dan filler, solubilitas dan porositas material, rasio bubuk dan cairan yang digunakan dalam penyusunan material, metode pencampuran, jumlah luas permukaan material yang terkena, dan jenis media penyimpanan²⁵.

GIC pada hari ke-7 mengalami maturasi sampel dengan perendaman dalam cairan PBS selama 6 hari sebelum sampel diujikan. Cairan PBS yang digunakan dalam penelitian ini memiliki pH 7,2 (netral). Ketika sampel direndam dalam cairan PBS, fluor yang dilepaskan kemungkinan besar sangat kecil karena perendaman sampel pada pH netral tidak menimbulkan disolusi sebesar perendaman sampel pada pH asam.

GIC melepaskan lebih banyak fluor pada lingkungan dengan pH rendah sehingga GIC memberikan fluor dalam jumlah terbesar ketika akan dibutuhkan untuk mencegah karies sekunder. Selain itu, menurut penelitian Carey, *et al*, jumlah fluor yang dilepaskan pada pH 5,2 secara signifikan lebih tinggi dari pada kondisi netral^{26, 27}.

Hal yang sama juga terjadi pada RMGIC. Hasil analisis uji beda kelompok RMGIC pada hari ke-1 dan ke-7 tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Perendaman sampel RMGIC pada PBS pH netral tidak menimbulkan disolusi yang besar pada permukaan RMGIC karena adanya tambahan resin HEMA. Pelepasan fluor pada RMGIC lebih didominasi oleh proses difusi yang berjalan lambat sehingga ion fluor yang dilepaskan perharinya tidak banyak¹⁴. Hal ini berdampak pada nilai OD

RMGIC hari ke-1 dan ke-7 memiliki selisih nilai OD yang sangat kecil sehingga jika dianalisis uji beda hasilnya tidak ada perbedaan bermakna. Hal ini menandakan bahwa efek antibiofilm RMGIC hari ke-1 sama besar dengan RMGIC hari ke-7 terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Hasil analisis uji beda kelompok kontrol dengan RMGIC pada hari ke-14 tidak memiliki perbedaan yang bermakna karena nilai pelepasan fluor pada GIC dan RMGIC paling tinggi terjadi pada hari pertama, kemudian mengalami penurunan secara cepat pada hari ke 7, 14, dan 28 dan perlahan-lahan menurun sampai fluor mencapai level konstan pelepasannya¹¹ sehingga RMGIC pada hari ke-14 dapat dikatakan tidak memiliki efek antibiofilm terhadap bakteri *L.acidophilus* karena pelepasan fluor yang sedikit.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antibiofilm GIC dan RMGIC terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan GIC mempunyai efek antibiofilm lebih besar dibandingkan RMGIC terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Daftar Pustaka

1. Klai S., Markus A., Bettina, S., Annette, A., Elmar, H., dan Ali, A., Antimicrobial Effect of Dental Luting Glass Ionomer cements on Streptococcus mutans. Journal of Scientific world 2014; 1-7.
2. N. Højby, T. Bjarnsholt, M. Givskov, S. Molin, and O. Ciofu., "Antibiotic resistance of bacterial biofilms" International Journal of Antimicrobial Agents 2010; 35(4): 322-332.
3. Jiang, X. Investigation of Antibacterial Properties during Hardening of Dental Cements. Degree project in applied biotechnology, master of science. Uppsala universitet; 2011.
4. Byun, R., Nadkarni, M. A., Chhour, K. L. & Martin, F. E., Quantitative Analysis of Diverse Lactobacillus Species Present in Advanced Dental Caries, J Clin Microbiol 2004; 42(7), 3128-31.
5. Marks, DW., Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis. Jakarta: EGC; 2000.
6. Babar MG., Lin SL., Cariostatic Effect of Fluoride-containing Restorative Materials: A Review. Malaysian Dental Journal 2009; 30(2) 130-136.
7. Fejerskov O, Edwina K., Dental Caries: The Disease and its Clinical Management Second Edition. Blackwell Publishing: UK; 2008. p.166
8. Bradshaw DJ, Marsh PD, Hodgson RJ, Visser JM., Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within in vitro dental bacterial communities and biofilms. Caries Research 2000; 36: 81-6.

9. **Subiyanto A.** Daya antibakteri semen gelas ionomer tipe perekat dan tumpatan terhadap *Streptococcus mutans*. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)* 2002; 35(93):111–3.
10. **Itota T, Carrick TE, Yoshiyama M, McCabe JF.,** Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite. *Dent Mater* 2004; 20:789-95.
11. **Basso GR, Bona AD, Gobbi DL, Cecchetti D.,** Fluoride Release from Restorative Materials. *Braz Dent J. Vol* 2011; 22(5): 355-358.
12. **Hatrick CD, Eakle WS, and Bird WF.,** *Dental Materials: Clinical Applications for Dental Assistants and Dental Hygienists.* Saunders: Elsevier's Health Sciences; 2003, p.73-183.
13. **Beyth N, Domb AJ, Weiss EI,** An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *Journal of dentistry* 2007; 35: 201-06.
14. **Wiegand A., Buchallaa W., Attina T.,** Review on fluoride-releasing restorative materials—Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dental materials* 2007; 23 (3):343–362.
15. **Van Noort R.** *Introduction to dental materials.* 2nd ed. USA: Mosby-Year Book, Inc; 2003. p.124-139.
16. **Marquis RE, Clock SA, Mota-Meira M.,** Fluoride and organicweak acids as modulators of microbial physiology. *FEMS Microbiol Rev* 2003; 26:493-510.
17. **Svensäter G, Sjögreen B, Hamilton IR.,** Multiple stress responses in *Streptococcus mutans* and the induction of general and stressspecific proteins. *Microbiology* 2000; 146(Pt 1):107-117.
18. **Nicholson JW.,** Fluoride-Releasing Dental Restorative Materials:An Update. *Balk J Dent Med* 2014; 18: 60-69.
19. **Mount GJ.,** *An Atlas of Glass Ionomer Cements: Clinician's Guide.* 3rd ed. London: Martin Dunitz; 2002. p. 3-7.
20. **Anusavice, K.J.** *Phillips' Science of Dental Materials,* 12th ed. Elsevier Saunders, Missouri; 2013. p. 63-5, 93-4, 100-4, 107-8, 474-482.
21. **Mount GJ, Hume, WR.,** Preservation and restoration of tooth structure. Australia: Watts; 2005. p. 163-96.
22. **Al Naimi OT, Itota T, Hobson RS, McCabe JF,** Fluoride release for restorative materials and its effect on biofilm formation in natural saliva. *J Mater Sci: Mater Med* 2008; 19:1243–1248.
23. **Hegde MN, Shetty AV.,** Fluoride Release From Three Different Glass Ionomer Cements In De-Ionised Water-An In Vitro Study. *Universitas Journal Of Pharmacy* 2013; 2 (6): 47-51.
24. **Zafar MS., Ahmed N.,** Therapeutic Roles Of Fluoride Released From Restorative Dental Materials. *Research review Fluoride* 2015; 48(3)184-194.
25. **Dionysopoulos D.** The Effect Of Fluoride-Releasing Restorative Materials On Inhibition Of Secondary Caries Formation. *Research review Fluoride* 2014; 47(3):258–65.
26. **Kiran A., Hegde V.,** A short term comparative analysis of Fluoride release from a newly introduced Glass Ionomer Cement in deionised water and lactic acid. *J. Int Oral Health* 2010; 2 (2): 71-7.
27. **Carey CM, Spencer M, Gove R., Eichmiller.,** Fluoride release from resin-modified glass ionomer cement in a continuous flow system. Effect of pH. *J Dent Res* 2003; 82(10): 829-32.