

**UJI ANTIBAKTERI PELAPISAN *HYDROXYAPATITE* DARI EKSTRAK DURI
BULU BABI (*DIADEMA SETOSUM*) TERHADAP PEMBENTUKAN BIOFILM
F. NUCLEATUM PADA PERMUKAAN *MINISCREW* ORTODONTI
BERBAHAN *STAINLESS STEEL* SECARA IN-VITRO**



VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE

J011211067



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**UJI ANTIBAKTERI PELAPISAN *HYDROXYAPATITE* DARI EKSTRAK DURI
BULU BABI (*DIADEMA SETOSUM*) TERHADAP PEMBENTUKAN BIOFILM
F. NUCLEATUM PADA PERMUKAAN *MINISCREW* ORTODONTI
BERBAHAN *STAINLESS STEEL* SECARA IN-VITRO**

**VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE
J011211067**



**DEPARTEMEN ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Uji Antibakteri Pelapisan *Hydroxyapatite* dari Ekstrak Duri Bulu Babi
(*Diadema setosum*) Terhadap Pembentukan Biofilm *F. nucleatum* Pada
Permukaan *Miniscrew* Ortodonti Berbahan *Stainless steel* Secara in-Vitro**

VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE

J011211067

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Kedokteran Gigi

pada

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

DEPARTEMEN ORTODONTI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

Uji Antibakteri Pelapisan *Hydroxyapatite* dari Ekstrak Duri Bulu Babi (*Diadema setosum*) Terhadap Pembentukan Biofilm *F. nucleatum* Pada Permukaan *Miniscrew* Ortodonti Berbahan *Stainless steel* Secara in-Vitro

VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE

J011211067

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pendidikan Dokter Gigi pada 04 Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi
Departemen Ortodonti
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing tugas akhir,

Karima Qurnia Mansjur, drg.,
Ph.D

NIP 198901172018074001

Mengetahui:

Ketua Program Studi



Muhammad Iqbal, drg., Ph.D.,
Sp.Prof. Subsp.PKIKG (K)

NIP 19801021 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Uji Antibakteri Pelapisan *Hydroxyapatite* dari Ekstrak Duri Bulu Babi (*Diadema setosum*) Terhadap Pembentukan Biofilm *F. nucleatum* Pada Permukaan *Miniscrew* Ortodonti Berbahan *Stainless steel* Secara in-Vitro" adalah benar karya saya dengan arahan dari Karima Qurnia Mansjur, drg., Ph.D sebagai Pembimbing. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 4 November 2024




VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE
J011211067

Ucapan Terima Kasih

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan karunia-Nya yang senantiasa memberikan kelancaran dan kemampuan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat selesai tepat pada waktunya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, bantuan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh sivitas akademik atas dukungan dan bantuan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan.
2. drg. Karima Qurnia Mansjur, Ph.D., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Dr. drg. Arni Irawaty Djais Sp. Perio. (K), selaku penasehat akademik yang selalu memberikan nasihat dan dukungan selama penulis menjalani proses perkuliahan.
4. Dr. Eka Erwansyah, drg., M.Kes., Sp. Ort., Subsp. DDTK (K) dan Ardiansyah S. Pawinru, drg., Sp. Ort., Subsp. DDTK (K), selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan masukan berharga selama penyusunan skripsi ini.
5. Kedua orang tua tercinta, Bapak Pius Upa Sumule dan Ibu Hermin Sombo, atas doa, pengorbanan, motivasi, dan dukungan yang luar biasa selama penulis menempuh pendidikan hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Saudari tercinta, Irene Nopi Praja Sumule, beserta seluruh keluarga yang senantiasa mendoakan dan mendukung penulis dalam menyelesaikan pendidikan ini.
7. Rekan tercinta, Bella Putri Widodo Tandiola, atas dukungan tulus, kesabaran, serta semangat yang tak pernah putus dalam mendampingi penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh sahabat yang bernama Iyad, Satrio, Eka, Dzaky, Rian, Qay, Hikmal, Stifan, dan Papat atas kebersamaan, dukungan, dan semangat yang tak pernah pudar selama masa studi dan penyusunan skripsi ini.

Penulis,



VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE

ABSTRAK

VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE. **Uji Antibakteri Pelapisan *Hydroxyapatite* dari Ekstrak Duri Bulu Babi (*Diadema setosum*) Terhadap Pembentukan Biofilm *F. nucleatum* Pada Permukaan *Miniscrew* Ortodonti Berbahan *Stainless steel* Secara *in-vitro*** (dibimbing oleh Karima Qurnia Mansjur, drg., Ph.D.).

Latar belakang. *Miniscrew* ortodonti merupakan salah satu komponen penting dalam perawatan ortodonti, berupa sekrup berukuran kecil yang ditanam ke dalam rahang. Dalam beberapa kasus, *miniscrew* kadang mengalami kegagalan diantaranya oleh karena infeksi. Hal ini diakibatkan oleh kolonisasi bakteri seperti *Fusobacterium nucleatum* yang menjadi penyebab peri-implantitis. Pendekatan terbaru untuk mengatasi kolonisasi bakteri adalah dengan menggunakan lapisan antibakteri alami yang berasal dari biota laut. Bulu babi (*Diadema setosum*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat maritim di Indonesia. Duri bulu babi memiliki senyawa kalsium karbonat (CaCO_3) yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber kalsium pada sintesis senyawa yang mengandung logam kalsium seperti *hydroxyapatite*. *Hydroxyapatite* berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antibakteri, karena memiliki komponen kalsium dan fosfat yang memiliki kemampuan ganda sebagai agen remineralisasi dan antibakteri. **Metode:** Jenis penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimen laboratoris dengan desain penelitian *post-test-only-controlled* group untuk menentukan pengaruh *hydroxyapatite* dari ekstrak duri bulu babi terhadap pertumbuhan bakteri *F. nucleatum*, dengan menggunakan metode difusi sumuran kemudian mengamati zona hambat di sekitar sumuran. **Hasil:** Ekstrak *hydroxyapatite* dari duri bulu babi dengan konsentrasi 0.4%, 0.6%, 0.8% menghasilkan zona hambat, yang menunjukkan senyawa tersebut memiliki daya antibakteri terhadap *F. nucleatum*. Zona hambat sudah mulai terbentuk pada konsentrasi 0.4% dengan rerata $22,65 \pm 1,15$. pada konsentrasi 0.8% menunjukkan zona hambat terbesar (selain kontrol positif) dengan rerata $26,98 \pm 1,37$. Hasil tabel menunjukkan semakin besar konsentrasi, maka semakin besar pula zona bening yang terbentuk. **Kesimpulan:** *Hydroxyapatite* dari ekstrak duri bulu babi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *F. nucleatum* secara *in-vitro*. Pada konsentrasi *hydroxyapatite* 0.8% menunjukkan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat daripada 0.4% dan 0.6%. Semakin tinggi konsentrasi *hydroxyapatite*, maka diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *F. nucleatum* juga semakin besar.

Kata Kunci: *miniscrew* ortodonti, pelapisan *hydroxyapatite*, duri bulu babi (*Diadema setosum*), pembentukan biofilm *F. nucleatum*

ABSTRACT

VIRGINO CALVINE LUDWICK SUMULE. ***Antibacterial Test of Hydroxyapatite Coating from Sea Urchin Thorn Extract (Diadema setosum) Against the Formation of Biofilm F. nucleatum on the surface of the orthodontic miniscrew made of stainless steel in-vitro*** (supervised by Karima Qurnia Mansjur, drg., Ph.D.)

Background. Orthodontic miniscrews are an essential component in orthodontic treatment, consisting of small screws implanted into the jaw. In some cases, miniscrews may fail, often due to infection. This is caused by bacterial colonization, such as *Fusobacterium nucleatum*, which leads to peri-implantitis. A recent approach to addressing bacterial colonization involves using natural antibacterial coatings derived from marine biota. The sea urchin (*Diadema setosum*) is a fishery commodity widely utilized by maritime communities in Indonesia. The spines of sea urchins contain calcium carbonate (CaCO_3), which can be used as a calcium source in the synthesis of calcium-containing compounds like hydroxyapatite. Hydroxyapatite has the potential to be used as an antibacterial material, due to its calcium and phosphate components that possess dual capabilities as remineralization and antibacterial agents. **Aim.** The type of research used was laboratory experimental research with a post-test-only-controlled group research design to determine the effect of Hydroxyapatite from sea urchin spines extract on the growth of *F. Nucleatum* bacteria, using the well diffusion method and then observing the inhibition zone around the well. **Results.** Hydroxyapatite extract from sea urchin spines at concentrations of 0.4%, 0.6%, 0.8% produced zones of inhibition, indicating the compound has antibacterial power against *Fusobacterium Nucleatum*. The inhibition zone has begun to form at a concentration of 0.4% with an average of $22,65 \pm 1,15$. at a concentration of 0.8% showed the largest inhibition zone (other than positive control) with an average of $26,98 \pm 1,37$. The table results show that the greater the concentration, the greater the clear zone formed. **Conclusion.** Hydroxyapatite from sea urchin spine extract exhibits antibacterial activity against *Fusobacterium nucleatum* in vitro. At a concentration of 0.8%, hydroxyapatite demonstrates stronger antibacterial activity compared to concentrations of 0.4% and 0.6%. The higher the concentration of hydroxyapatite, the larger the inhibition zone diameter against the growth of *Fusobacterium nucleatum*.

Keywords: orthodontic miniscrews, hydroxyapatite coating, sea urchin (*diadema setosum*) spine, biofilm formation on *Fusobacterium Nucleatum*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGANJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.4.1 Manfaat Ilmiah	2
1.4.2 Manfaat Aplikatif	3
BAB II METODE PENELITIAN	4
2.1 Jenis Penelitian	4
2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	4
2.2.1 Lokasi penelitian	4
2.2.2 Waktu penelitian	4
2.3 Variabel Penelitian	4
2.3.1 Variabel Bebas	4
2.3.2 Variabel Terikat	4
2.3.3 Variabel Kendali	4
2.4 Sampel Penelitian	4
2.4.1 Besar Sampel	4
2.4.2 Kriteria Sampel	5
2.4.3 Kriteria Inklusi	5
2.4.4 Kriteria Eksklusi	5
2.5 Definisi Operasional	5
2.6 Alat dan Bahan	6
2.6.1 Alat Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu;	6
2.6.2 Bahan	6
2.7 Prosedur Penelitian	7
2.7.1 Pembuatan Ekstrak Duri Bulu Babi menjadi <i>Hydroxyapatite</i>	7
2.7.2 Pembuatan Ekstrak Duri Bulu Babi dengan Berbagai Konsentrasi	7

2.7.3	Persiapan Bakteri <i>F. nucleatum</i>	7
2.7.4	Pembuatan Lapisan dari <i>Hydroxyapatite</i>	8
2.7.5	Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram (Sumuran)	8
2.8	Analisis Data	9
2.9	Alur Penelitian	9
2.9.1	Pembuatan Ekstrak Duri Bulu Babi menjadi <i>Hydroxyapatite</i>	9
2.9.2	Uji Antibakteri Metode Difusi Sumuran	10
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN		11
3.1	Hasil	11
3.1.1	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	11
3.1.2	Uji Statistik Zona Inhibisi <i>Hydroxyapatite</i> Terhadap Bakteri <i>F. nucleatum</i>	14
3.2	Pembahasan	16
3.2.1	Diameter Zona Hambat Kontrol Negatif	17
3.2.2	Diameter Zona Hambat Kelompok Perlakuan	17
3.2.3	Diameter Zona Hambat Kontrol Positif	17
3.2.4	Pelapisan <i>Hydroxyapatite</i> dari Ekstrak Duri Bulu Babi (<i>Diadema setosum</i>) Pada Permukaan <i>Miniscrew</i> Ortodonti	17
BAB IV PENUTUP		19
4.1	Kesimpulan	19
4.2	Saran.....	19
DAFTAR PUSTAKA.....		20
LAMPIRAN		23

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3. 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat hydroxyapatite terhadap pertumbuhan bakteri <i>F. nucleatum</i>	12
Tabel 3. 2. Kategori kekuatan daya hambat	13
Tabel 3. 3. Hasil uji statistik zona inhibisi <i>hydroxyapatite</i> terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i>	15
Tabel 3. 4. Hasil perbedaan rata-rata pada masing-masing kelompok konsentrasi.....	15
Tabel 3. 5. Perbedaan signifikansi uji LSD	16

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3. 1. Ekstrak duri bulu babi.....	11
Gambar 3. 2. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i> (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2, (c) pengulangan 3, (d) pengulangan 4, (e) pengulangan 5.....	12
Gambar 3. 3. Diagram rerata zona hambat ekstrak <i>hydroxyapatite</i> dari duri bulu babi terhadap bakteri <i>F. nucleatum</i>	14
Gambar 3. 4. Perendaman <i>miniscrew</i> dengan larutan <i>hydroxyapatite</i>	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Tugas	24
Lampiran 2. Etik Penelitian	25
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian	26
Lampiran 4. Undangan Seminar Hasil	28
Lampiran 5. Berita Acara Seminar Hasil	29
Lampiran 6. Kartu Kontrol Skripsi	30
Lampiran 7. Analisis Data	31
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian	34
Lampiran 9. Daftar Riwayat Hidup	37
Lampiran 10. Rincian Biaya Penelitian	38

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Maloklusi merupakan kelainan pada gigi atau kelainan pada lengkung gigi di luar variasi dari apa yang dianggap normal (Laishram., 2022). Prevalensi maloklusi di Indonesia masih sangat tinggi yaitu sekitar 80% dari jumlah penduduk. Seiring berjalannya waktu, kesadaran masyarakat terhadap penampilan semakin meningkat. Hal ini sejalan dengan perkembangan ilmu kedokteran gigi khususnya ortodonti yang bertujuan untuk memperbaiki tampilan gigi (Acharya., 2018).

Kontrol penjangkaran menjadi salah satu kunci yang penting untuk memperoleh keberhasilan dalam bidang ortodonti. *Miniscrew* ortodonti merupakan salah satu jenis dari *Temporary Anchorage Devices* (TAD) yang dapat mengurangi kerugian penjangkaran konvensional dengan memberikan penjangkaran absolut.

Pada beberapa tahun terakhir penggunaan *miniscrew* ortodonti sebagai penjangkar absolut telah memberikan hasil perawatan dengan tingkat keberhasilan yang tinggi (Bakri et al., 2023). Tingkat keberhasilan *miniscrew* ortodonti berkisar antara 88,38% hingga 95,7%, dengan tingkat keberhasilan rata-rata 89,8%, dan angka kegagalan sebesar 6,6% - 16,1% (Gurdan dan Szalma, 2018).

Miniscrew cukup stabil terhadap gaya ortodonti dari 50-250g. Penggunaan *miniscrew* ortodonti juga memberikan hasil perawatan yang lebih menguntungkan pada banyak kasus misalnya intrusi gigi posterior maksila, pergerakan akar ke mesial untuk penutupan ruang bekas pencabutan atau distalisasi lengkung maksila secara keseluruhan (Anggani et al., 2021).

Namun, dibalik tingkat keberhasilan yang tinggi, terdapat masalah penting pada pemasangan *miniscrew* ortodonti yaitu biofilm bakteri yang terdapat pada permukaan *miniscrew* yang memicu infeksi peri-implantitis. Berdasarkan penelitian Changi et al. (2019) menyebutkan bahwa setelah 2 tahun, 34% dari pasien yang diteliti mengalami peri-implantitis, dan 21% dari implan yang dipasang menunjukkan tanda-tanda kondisi tersebut.

Penelitian sebelumnya oleh Anggani et al. (2021) menyatakan bahwa faktor utama yang menyebabkan kegagalan *miniscrew* meningkat sebanyak 30% adalah kolonisasi pada permukaan *miniscrew* oleh bakteri patogen, yang menyebabkan terjadinya peradangan pada jaringan di sekitarnya. Keberadaan bakteri anaerob obligat gram-negatif seperti *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) berkontribusi signifikan sebanyak 64% (Iusan et al., 2022) terhadap pembentukan dan pematangan biofilm pada penyakit peri-implan. Hal ini menunjukkan bahwa *F. nucleatum* juga berperan penting dalam penyakit peri-implantitis, serupa dengan penyakit periodontal seperti periodontitis dengan prevalensi 68% (Chen et al., 2022).

Pencegahan peri-implantitis memerlukan pemberian antibiotik secara sistemik dan lokal. Namun, banyak faktor yang harus dipertimbangkan. Oleh

karena itu, diperlukan formulasi terbaru untuk mencegah peri-implantitis yaitu dengan pelapisan antibakteri. Pendekatan terbaru untuk mencegah kolonisasi bakteri adalah dengan penggunaan lapisan antimikroba alami yang berasal dari biota laut (Bharathi and Lee, 2024).

Bulu babi (*Diadema setosum*) merupakan salah satu jenis biota perairan yang berasal dari filum echinodermata. Penyebaran bulu babi terdapat hampir di seluruh zona perairan Indonesia. Cangkang dan durinya telah digunakan dalam bidang kesehatan untuk pengobatan penyakit, memiliki potensi sebagai anti kanker, anti tumor, dan anti mikroba (MM El Sayed et al., 2021).

Cangkang bulu babi tergolong keras sedangkan pada duri bulu babi memiliki senyawa kalsium karbonat (CaCO_3) yang menempel pada tegument/matriks di tubuhnya. Kalsium karbonat tersebut nantinya akan disintesis dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber kalsium pada sintesis senyawa yang mengandung logam kalsium seperti *hydroxyapatite*. Menurut penelitian Sukiman et al. (2019) kandungan dalam *hydroxyapatite* seperti ion kalsium dan ion fosfat mengandung bahan aktif yang menghasilkan aktivitas dari antibakteri yang sangat kuat.

Duri bulu babi lebih dipilih untuk biosintesis *hydroxyapatite* karena kelimpahan alami dan keunikan struktur pori-pori dari durinya, yang terdiri dari kalsit kristal tunggal, menghasilkan struktur yang kuat, kaku, dan ringan yang meningkatkan kekuatan meskipun bahan tersebut rapuh (Cao et al., 2017).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti tertarik melakukan penelitian untuk meneliti tentang aktivitas antibakteri pelapisan *hydroxyapatite* dari ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) terhadap pertumbuhan biofilm *F. nucleatum* pada permukaan *miniscrew* ortodonti.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antibakteri pelapisan *hydroxyapatite* dari ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) terhadap pembentukan biofilm *F. nucleatum* pada permukaan *miniscrew* ortodonti?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri pelapisan *hydroxyapatite* dari ekstrak bulu babi (*Diadema setosum*) terhadap pembentukan biofilm *F. nucleatum* pada permukaan *miniscrew* ortodonti.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Ilmiah

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri pelapisan *hydroxyapatite* dari ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) terhadap pembentukan biofilm *F. nucleatum* pada permukaan *miniscrew* ortodonti.
2. Menambah motivasi klinisi untuk melakukan penelitian lanjutan hingga menghasilkan produk baru yang dapat digunakan dalam praktik klinis.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

1. Dapat dijadikan sebagai landasan untuk pengembangan material ortodonti baru yang memiliki sifat anti-biofilm menggunakan ekstrak alami yaitu *hydroxyapatite* dari duri bulu babi

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimen laboratoris dengan desain penelitian *post-test-only-controlled group* untuk menentukan pengaruh *hydroxyapatite* dari ekstrak duri bulu babi terhadap pertumbuhan bakteri *F. nucleatum*.

2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.2.1 Lokasi penelitian

1. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
2. Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia

2.2.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan bulan Desember 2023 – Februari 2024

2.3 Variabel Penelitian

2.3.1 Variabel Bebas

Hydroxyapatite dari ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) dengan konsentrasi 0,4%, 0,6%, dan 0,8%.

2.3.2 Variabel Terikat

Zona hambat *hydroxyapatite* terhadap bakteri *F. nucleatum*

2.3.3 Variabel Kendali

Waktu, media kultur, miniscrew, kaliper, dan suhu

2.4 Sampel Penelitian

2.4.1 Besar Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah mikroorganisme rongga mulut yang menjadi penyebab terjadinya infeksi peri-implantitis. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan murni bakteri *F. nucleatum* yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Menurut fereder, rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental dengan perlakuan sebanyak 5 perlakuan yaitu sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan:

n: Banyaknya sampel (pengulangan)

t: Banyaknya perlakuan

Berdasarkan rumus diatas, maka besar sampel yang digunakan adalah 4,75 atau dibulatkan menjadi 5 sampel. Besar sampel yang digunakan sebagai acuan dilakukannya pengulangan pada penelitian ini adalah 5 kali pengulangan.

2.4.2 Kriteria Sampel

2.4.3 Kriteria Inklusi

1. Duri bulu babi (*Diadema setosum*) yang telah didemineralisasi dan deasetilasi.
2. Bakteri *F. nucleatum* yang telah dibiakkan
3. Miniscrew ukuran 2mm x 12mm

2.4.4 Kriteria Eksklusi

1. Ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) yang telah terkontaminasi
2. Bakteri *F. nucleatum* yang telah terkontaminasi.

2.5 Definisi Operasional

- a. Duri bulu babi (*Diadema setosum*) adalah duri pada bulu babi yang digunakan untuk pertahanan diri dan sebagai alat pergerakan.
- b. Ekstrak adalah salah satu bentuk sediaan farmasi untuk mengetahui daya hambat pertumbuhan *F. nucleatum* pada *miniscrew* ortodonti.
- c. *F. nucleatum* merupakan bakteri oportunistik mulut yang umum dan dapat menyebabkan berbagai infeksi terutama penyakit periodontal.
- d. *Miniscrew* ortodonti adalah perangkat kecil berbentuk sekrup yang dipasang pada tulang rahang sebagai penjangkaran.

2.6 Alat dan Bahan

2.6.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu;

1. Fujitsu Fsr-B
2. Kompor Listrik
3. Oven Listrik
4. Saringan
5. Alat Pengaduk
6. Beaker Glass
7. Pipet
8. Inkubator
9. Autoklaf
10. Spektrofotometri(Uv-Vis Amv11)
11. Vortex
12. Microplate 96 well
13. Timbangan analitik
14. Vial

2.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini:

1. Duri bulu babi (*Diadema setosum*)
2. NaOH
3. CH₃COOH
4. Aquades
5. Hcl
6. PBS 0,1%
7. Bakteri *F. nucleatum*
8. Strach Nitrat Broth (SNB)
9. Nutrient Broth (NB)
10. Nutrient Agar (NA)
11. Muller Hilton Agar (MHA)
12. Asam asetat
13. Etanol 70%
14. Nacl fisiologis 0.9%

15. Azitromycin
16. Bubuk *hydroxyapatite* ekstrak duri bulu babi
17. *Miniscrew* 10 mm
18. Larutan glutaraldehid 2%
19. Triphenyltetrazolium chloride (TTC)

2.7 Prosedur Penelitian

2.7.1 Pembuatan Ekstrak Duri Bulu Babi menjadi *Hydroxyapatite*

Pertama yang dilakukan yaitu mensintesis CaO, duri bulu babi dicuci dengan air suling sampai bahan lunak organik yang ada dihilangkan. Kemudian dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada suhu 100 °C. Selanjutnya ditimbang dan digiling hingga diperoleh serbuk halus. Terakhir, bubuk ditempatkan dalam oven selama 10 menit pada suhu 800 °C, dengan heat ramp awal 12 °C/menit. Setelah memperoleh CaO, 145 mg ditempatkan dalam gelas kimia dengan 5 mL air suling dan diaduk selama 15 menit pada suhu 35 °C. Untuk sintesis HA, setelah 15 menit pengadukan pada sintesis Ca(OH)₂ sebelumnya, 70 µL H₃PO₄ ditambahkan dengan kecepatan 1 tetes/detik ke dalam gelas kimia yang terus diaduk. Setelah ditambahkan H₃PO₄, pengadukan dilanjutkan selama 18 jam pada suhu yang sama (35 °C). Produk kemudian disaring dan dicuci dengan air suling sampai diperoleh pH netral. Bahan kemudian dikeringkan pada suhu 60 °C pada pengaduk magnet dan terakhir diberi perlakuan panas 700 °C dalam oven dengan laju panas 12 °C/menit.

2.7.2 Pembuatan Ekstrak Duri Bulu Babi dengan Berbagai Konsentrasi

Pembuatan ekstrak duri bulu babi dengan konsentrasi 0,4%, 0,6%, dan 0,8% dapat dimulai dengan menimbang mulai dari 0,4 g, 0,6 g, dan 0,8 g. kemudian ekstrak duri bulu babi diencerkan menggunakan larutan saline sebanyak 10 ml ke dalam cawan petri steril. Selanjutnya aduk hingga homogen antara kedua larutan dan variasi konsentrasi larutan telah diperoleh.

2.7.3 Persiapan Bakteri *F. nucleatum*

Pembuatan kultur starter dilakukan dengan memasukkan 1/4 plate isolat *F. nucleatum* ke dalam erlenmeyer yang berisi media SNB sebanyak 50 mL yang sudah disterilkan. Kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari dengan

pengadukan menggunakan magnetic stirrer

2.7.4 Pembuatan Lapisan dari *Hydroxyapatite*

Reaksi salinisasi kimiawi menurut metodologi Bumgardiner dengan beberapa modifikasi digunakan untuk melapisi *miniscrew* dengan *hydroxyapatite*. *Miniscrew* disuspensikan dalam larutan air/etanol 5:95 vol% yang diaduk dan diasamkan hingga pH 4,5 dengan asam asetat 10 M. Selanjutnya, agen penghubung garam (2 vol%) ditambahkan selama 10 menit pada suhu ruangan sementara pH dipertahankan antara 4,5-5,5 dengan 1 M NaOH atau asam asetat 10 M. Setelah itu, *miniscrew* dicuci menggunakan etanol dan diawetkan pada suhu 110°C selama 10 menit. *Miniscrew* kemudian disuspensikan dalam larutan glutaraldehid 2 vol% yang diaduk pada pH 4,3 pada suhu kamar semalam. Larutan *hydroxyapatite* 2 wt% dibuat dengan asam asetat 0,2% pada RT dan disimpan pada suhu 4°C semalaman. Kemudian, 1 ml dari setiap larutan *hydroxyapatite* dituang di atas cakram implan pada suhu kamar. Kelebihan air dibiarkan menguap selama 5-7 hari untuk membentuk lapisan tipis. *Miniscrew* yang telah dilapisi disterilkan menggunakan sinar ultraviolet (UV) selama satu jam, diikuti dengan perendaman dalam etanol (70%) selama 2 jam, dan kemudian dicuci dua kali dengan larutan buffer fosfat (PBS).

2.7.5 Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram (Sumuran)

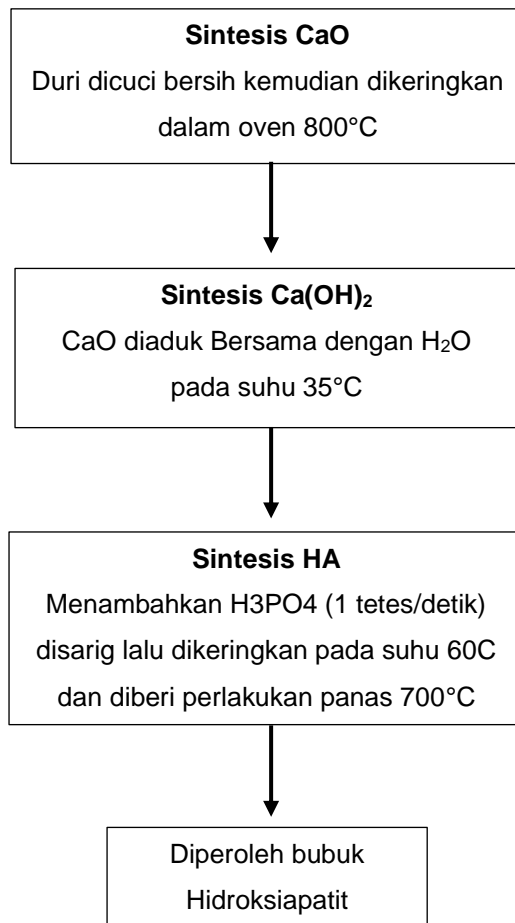
Uji aktivitas antibakteri *hydroxyapatite* dengan metode difusi. Sebanyak 10 µl bakteri uji dimasukkan ke dalam muller hilton agar (MHA), divortex perlahan agar homogen dan campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Setelah agar membeku, dibuat sumur agar berdiameter 5 mm dan dimasukkan 10 µl konsentrasi *hydroxyapatite* yaitu 0,4%, 0,6%, dan 0,8%, azitromycin (kontrol positif) dan PBS 0,1% sebagai pelarut (kontrol negatif). Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama ±24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening di sekitar sumur agar. Diameter zona hambat yang terbentuk karena adanya daya antibakteri dari *hydroxyapatite*, azitromycin, dan PBS 0,1% yang diukur dari sisi sebelah kiri sampai sisi sebelah kanan dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran daya hambat ditabulasi.

2.8 Analisis Data

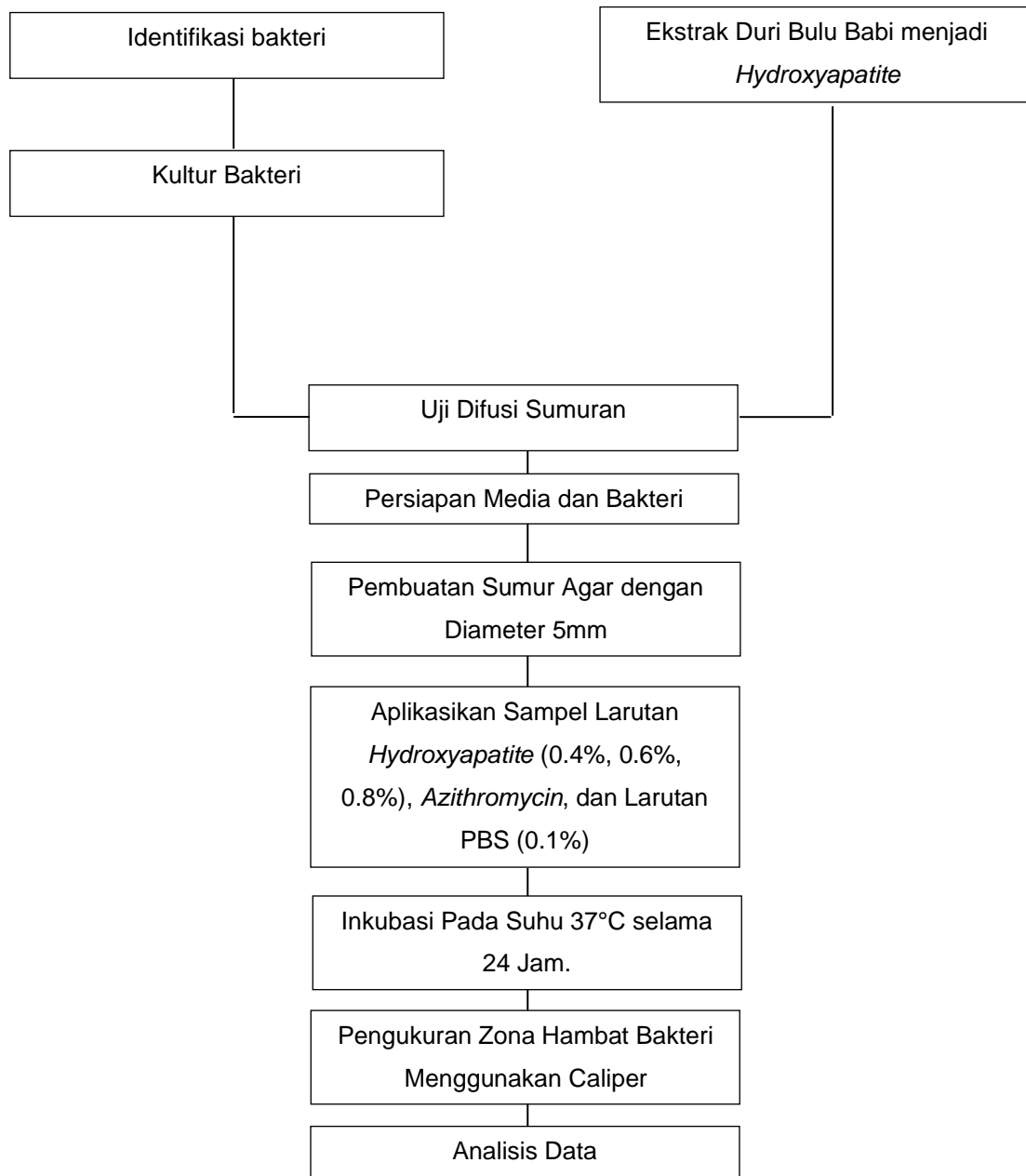
Data dianalisis dan diolah menggunakan Uji Analysis of Variance (Anova) dengan Program SPSS versi 29.

2.9 Alur Penelitian

2.9.1 Pembuatan Ekstrak Duri Bulu Babi menjadi *Hydroxyapatite*



2.9.2 Uji Antibakteri Metode Difusi Sumuran



BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil

Ekstrak *hydroxyapatite* dari bulu babi diperoleh dari 3 tahapan sintesis yaitu sintesis CaO, sintesis Ca(OH)₂ dan sintesis HA. Penelitian ini menggunakan oven untuk mengatur temperatur biosintesis ideal untuk menghasilkan HA murni tinggi dari duri bulu babi. Setelah dilakukan proses ekstraksi, ekstrak *hydroxyapatite* dari duri bulu babi kemudian masing-masing diencerkan menjadi konsentrasi 0.4%, 0.6%, dan 0.8% serta disiapkan kontrol positif dan negatif berupa sumuran azitromychin dan larutan PBS 0.1%. Penentuan pemberian ekstrak *hydroxyapatite* dari duri bulu babi terhadap pertumbuhan bakteri *F. nucleatum* dilakukan dengan metode difusi sumuran.

3.1.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia pada bulan Januari-Februari 2024. Jenis Penelitian yang dilakukan, yaitu eksperimental laboratorium dengan *post-test only control group*. Pada penelitian ini dilakukan pengujian daya hambat ekstrak *hydroxyapatite* dari duri bulu babi terhadap bakteri *F. nucleatum* secara in-vitro.



Gambar 3. 1. Ekstrak duri bulu babi

Perbedaan daya antimikroba ditentukan dengan besar zona hambat yang terbentuk pada medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang telah di-swab dengan bakteri *F. nucleatum* kemudian senyawa *hydroxyapatite* dan diinkubasi selama 24 jam. Perubahan yang diamati pada penelitian ini yaitu terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri yang ada di sekeliling sumuran yang berisi ekstrak.