

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kolonisasi bakteri merupakan proses kompleks yang terjadi pada rongga mulut dan dalam kondisi normal merupakan bagian dari flora oral normal, namun ketika terjadi ketidakseimbangan dari populasi bakteri tersebut maka akan terjadi suatu interaksi disbiosis di dalam rongga mulut sehingga berpotensi menyebabkan penyakit dalam rongga mulut (Kriswandini et al., 2024). Proses kolonisasi tersebut terjadi dimulai dengan terjadinya pembentukan biofilm. Biofilm tersebut menjadi tempat melekatnya koloni bakteri dan memungkinkan terjadinya proliferasi populasi bakteri (Koka et al., 2021). Melekatnya biofilm tersebut terjadi karena suatu proses adesi yang disebabkan oleh komposisi dari biofilm berupa *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) dan dapat dipengaruhi oleh kondisi fisiokimia dari rongga mulut yang mempengaruhi kemampuan adesi dari biofilm untuk melekat di rongga mulut (Chathoth et al., 2022).

Kesehatan mulut dan gigi yang dirawat dengan baik, menyebabkan infeksi bakteri yang terjadi semakin sedikit. Sebaliknya, kebersihan mulut yang buruk dapat menyebabkan jumlah bakteri yang ada di dalam rongga mulut menjadi meningkat. Bakteri yang ditemukan dalam rongga mulut dan memiliki peran besar dalam kolonisasi awal bakteri dan pembentukan biofilm, memproduksi eksopolisakarida yang penting dalam pembentukan biofilm. Regulasi sintesis eksopolisakarida pada bakteri ini melibatkan faktor-faktor seperti faktor transkripsi genetik, *two-component system*, dan *quorum-sensing signalling*. Faktor transkripsi membantu pembentukan dan resistensi biofilm setiap jenis bakteri, *two-component system* mengatur transduksi sinyal melalui reaksi histidin aspartate phosphorelay, sementara *quorum-sensing signalling* mengatur ekspresi gen berdasarkan kepadatan populasi mikroorganisme. (Zheng et al., 2023) .



Kemampuan adesi bakteri dalam biofilm ini dapat menyebabkan berkembangnya koloni bakteri dalam rongga mulut dan menjadi tantangan dalam bidang kedokteran gigi untuk menjaga *Oral Hygiene* dari pasien terutama pada pengguna piranti ortodonti, hal ini terjadi karena penggunaan piranti ortodonti merupakan salah satu faktor predisposisi berkurangnya kebersihan rongga mulut. (Eldriny et al., 2020)

Propolis, sebuah resin alami yang dihasilkan oleh lebah, telah banyak diteliti untuk aplikasinya di bidang kedokteran gigi, terutama dalam mengurangi inflamasi dan kolonisasi bakteri. Efek antimikroba yang dimiliki propolis menjadikannya bahan yang potensial untuk mencegah dan mengurangi risiko gingivitis, terutama pada individu dengan kebersihan rongga mulut yang kurang optimal. Dalam konteks perawatan ortodonti, penggunaan propolis dapat membantu memitigasi risiko komplikasi yang sering muncul akibat akumulasi plak di sekitar piranti ortodonti. (Furtado Júnior et al., 2020; Šabanović et al., 2019)

Kemampuan anti-inflamasi propolis juga memberikan manfaat signifikan dalam mendukung kesehatan jaringan periodontal. Dengan mengendalikan proses inflamasi dan resorpsi tulang, propolis membantu menjaga integritas jaringan periodontal, yang sangat penting dalam perawatan ortodonti atau pada pasien dengan kondisi periodontal yang rentan. (Carvalho et al., 2019)

Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa propolis dapat diintegrasikan dalam berbagai aspek perawatan ortodonti. Propolis dapat digunakan sebagai bahan tambahan dalam produk perawatan mulut seperti pasta gigi atau gel untuk mengurangi risiko infeksi, mengontrol inflamasi, dan meningkatkan kesehatan gigi secara keseluruhan. Efek ini sangat relevan dalam menurunkan komplikasi yang terkait dengan perawatan ortodonti, seperti gingivitis dan peri-implantitis, sehingga mendukung keberhasilan jangka panjang perawatan. (Šabanović et al., 2019). Integrasi propolis dalam praktik kedokteran gigi modern, terutama dalam perawatan ortodonti, menawarkan pendekatan alami yang menjanjikan untuk meningkatkan



kesehatan mulut sekaligus mengurangi risiko komplikasi akibat biofilm dan inflamasi.

Adesi bakteri pada piranti ortodontik, termasuk kawat *stainless steel*, merupakan tantangan utama dalam bidang ortodonti. Kawat stainless steel, yang umum digunakan, memiliki tingkat adesi bakteri yang tinggi karena sifat permukaannya yang mendukung penempelan mikroorganisme. Akumulasi bakteri pada kawat ini dapat memicu demineralisasi enamel gigi, yang jika tidak diatasi akan berakibat menyebabkan karies dan memperburuk kolonisasi bakteri. Proses ini, dalam jangka panjang, tidak hanya memengaruhi integritas enamel tetapi juga kesehatan jaringan periodontal. Dampaknya dapat mencakup inflamasi, gingivitis, hingga periodontitis, yang berisiko berkembang lebih lanjut apabila kontrol plak tidak optimal. (ELdriny et al., 2020; Lamont et al., 2018)

Selain kawat ortodontik, piranti *Temporary Anchorage Device* (TAD) juga menjadi fokus perhatian dalam kaitannya dengan adesi bakteri dan pembentukan biofilm. TAD, yang sering digunakan untuk memberikan dukungan tambahan dalam perawatan ortodonti, dapat menjadi tempat melekatnya biofilm bakteri. Pembentukan biofilm pada TAD, jika dibiarkan, dapat memengaruhi stabilitas piranti ini serta meningkatkan risiko komplikasi, seperti inflamasi jaringan di sekitarnya. Oleh karena itu, kondisi rongga mulut yang optimal sangat penting untuk memastikan stabilitas TAD dan keberhasilan penggunaannya dalam perawatan ortodonti. (Nanda et al., 2020)

Dengan adanya risiko yang ditimbulkan oleh adesi bakteri pada piranti ortodontik, penting untuk mengimplementasikan strategi pencegahan yang efektif, seperti kebersihan mulut yang baik, penggunaan bahan ortodontik dengan sifat antibakteri, serta pengawasan rutin oleh profesional kesehatan gigi. Pendekatan ini dapat membantu meminimalkan dampak buruk dari pembentukan biofilm bakteri dan menjaga kesehatan jaringan periodontal selama perawatan ortodonti.

Dalam penggunaan *Temporary Anchorage Devices* (TAD), akumulasi biofilm merupakan salah satu faktor utama yang dapat menyebabkan



kegagalan integrasi titanium miniscrew di area implantasi. *Streptococcus mutans* memiliki peran penting dalam proses pembentukan biofilm, terutama melalui produksi polisakarida ekstraseluler yang memfasilitasi adhesi bakteri pada permukaan TAD. Penelitian menunjukkan bahwa pengurangan signifikan jumlah *Streptococcus mutans* dapat secara langsung menurunkan pembentukan biofilm. Hal ini menjadi strategi potensial dalam mendukung keberhasilan integrasi TAD. (Nanda et al., 2020)

Selain *Streptococcus mutans*, bakteri lain seperti *Prevotella intermedia* dan *Eikenella corrodens* juga sering diidentifikasi pada kasus kegagalan TAD. Kedua bakteri ini berkontribusi pada peningkatan *bacterial load* yang mempercepat kolonisasi dan pembentukan biofilm pada area implantasi. Akumulasi bakteri ini tidak hanya memperburuk inflamasi di sekitar TAD, tetapi juga meningkatkan risiko kegagalan integrasi melalui mekanisme destruktif yang merusak jaringan sekitar. (Zhang, et al. 2023)

Dampak lain dari penggunaan TAD, terutama ketika dikombinasikan dengan piranti ortodonti cekat, adalah perubahan mikrobiota rongga mulut. Penggunaan piranti tersebut dapat menciptakan lingkungan yang lebih kondusif untuk kolonisasi bakteri patogen. Mikrobioma yang terbentuk di sekitar piranti ortodonti dapat meningkatkan retensi plak dan biofilm, sehingga berkontribusi pada dysbiosis oral yang meningkatkan risiko komplikasi, termasuk inflamasi jaringan lunak dan peri-implantitis (Perkowski et al., 2019)

Pemahaman mengenai hubungan antara biofilm dan kegagalan TAD ini menjadi dasar penting untuk pengembangan strategi pencegahan yang lebih efektif, seperti optimalisasi kebersihan oral dan penggunaan material antibakteri pada piranti ortodonti.

Secara umum, biofilm dan koloni bakteri pada TAD atau mini-implan terutama menumpuk di bagian permukaan, seperti pada *head*, profil transmukosa, dan *body*. Studi menunjukkan bahwa bakteri sering ditemukan pada *head* dan profil transmukosa dari TAD, baik pada piranti yang gagal maupun yang berhasil, tetapi bakteri jarang ditemukan pada *body*, terutama pada piranti yang gagal, dengan hanya satu piranti yang



menunjukkan bakteri pada *body*. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik, tidak ada hubungan signifikan antara kegagalan TAD dan keberadaan koloni bakteri pada permukaan TAD (Ferreira et al., 2015)

Komplikasi dari penggunaan piranti ortodontik juga meningkatkan risiko kondisi patologis pada rongga mulut seperti *gingivitis* dan lesi *white spot*, yang umum terjadi dalam perawatan ortodontik. Akumulasi biofilm dapat meningkatkan tingkat keasaman pada *interface* antara piranti ortodontik dengan gigi atau jaringan lunak (Loewe et al., 2024). Faktor yang memengaruhi akumulasi biofilm pada TAD termasuk kesehatan jaringan periodontal serta lokasi dan desain TAD. Pada pasien dengan periodontitis, akumulasi bakteri seperti *Fusobacterium* dan *Porphyromonas* lebih tinggi dibandingkan pada pasien dengan jaringan periodontal yang sehat, yang menghasilkan biofilm yang lebih patogenik (Zhang, et al., 2023)

Temuan ini menunjukkan urgensi untuk meningkatkan kebersihan rongga mulut agar permukaan TAD dapat mengalami pengurangan akumulasi biofilm agar integrasi dari TAD terhadap rongga mulut dapat terjadi dengan baik.

Akumulasi biofilm dan kolonisasi bakteri dalam rongga mulut berpengaruh besar pada keberhasilan integrasi TAD. Oleh karena itu, mengukur tingkat kolonisasi bakteri penting untuk menentukan prosedur yang tepat sebelum dan sesudah implantasi, terutama pada individu dengan OH yang buruk.

Penelitian menggunakan propolis telah banyak dilakukan. Namun penelitian yang menggunakan bahan propolis belum menilai secara spesifik efek propolis terhadap kolonisasi bakteri. Dengan beberapa alasan ini, maka peneliti tertarik melakukan penelitian pengaruh pemberian propolis terhadap mengukur perbedaan tingkat kolonisasi bakteri pada proses pemasangan *Temporary Anchorage Device*.

1.2 Kolonisasi Bakteri

Kolonisasi bakteri adalah ditemukannya sekumpulan bakteri atau mikroorganisme pada tubuh manusia, dan bakteri tersebut tidak menimbulkan gejala klinis. Selain manusia, kolonisasi juga dapat tumbuh



pada tumbuhan, hewan, atau benda yang ada disekitar manusia terutama di lingkungan rumah sakit. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi perkembangan kolonisasi bakteri yaitu faktor internal yang berasal dari sifat bakteri itu sendiri dan lingkungan sebagai faktor eksternal yang bertindak sebagai vektor untuk transmisi (Aulawi & Lusmilasari, 2020)

1.2.1 Pembentukan Biofilm pada Rongga Mulut

Proses kolonisasi bakteri pada rongga mulut dimulai dari pembentukan biofilm pada rongga mulut. Proses tersebut dimulai dengan pembentukan pelikel dari saliva, yang menjadi dasar bagi proses adhesi, kolonisasi, proliferasi, koaggregasi, dan akhirnya maturasi biofilm pada komunitas kesehatan yang kompleks. Biofilm merupakan agregasi mikroorganisme yang terbentuk dalam matriks ekstraseluler. Matriks ini berperan penting sebagai tempat tinggal bagi mikroorganisme dan berfungsi melindungi komunitas tersebut dari berbagai faktor eksternal. Mikrobioma oral, yaitu kesehatan mikroorganisme yang hidup di dalam mulut, memiliki peran besar dalam pembentukan dan perkembangan biofilm ini. Matriks ekstraseluler yang kesehatan biofilm umumnya terdiri dari polisakarida, protein, lipid, dan DNA ekstraseluler yang berfungsi sebagai substrat antar sel mikroba (Shelemo, 2023)

Proses deposisi biofilm dimulai ketika komponen anorganik dan organik dari saliva, seperti protein dan glikoprotein, serta komponen dari *gingival crevicular fluid* (GCF), membentuk lapisan dasar pada permukaan gigi atau jaringan mulut lainnya. Selanjutnya, terjadi adhesi atau perlekatan awal dari mikroorganisme ke permukaan tersebut, diikuti dengan kolonisasi mikroorganisme yang melekat lebih kuat melalui produksi polimer. Dalam fase ini, bakteri membentuk struktur seluler yang kokoh, yang memungkinkan mereka untuk saling berinteraksi dan memperkuat ikatan antar sel. Kolonisasi awal biasanya dimulai dengan bakteri dari genus *Streptococcus*, yang menjadi pelopor bagi perkembangan biofilm. Setelah itu, bakteri lain, baik gram positif maupun gram negatif bergabung, memperluas biofilm melalui ekspansi koloni dan pertumbuhan mikroorganisme baru. (Biradar et al., 2017; Chathoth et al., 2022)



Seiring dengan ekspansi dan pertumbuhan bakteri, terjadilah kolonisasi oleh bakteri sekunder, yang mulai membentuk mikrokoloni sendiri dan melakukan koadesi, yaitu melekat ke koloni utama. Koadesi ini memungkinkan interaksi antar bakteri dari berbagai spesies, sehingga memperkaya komposisi biofilm. Pada fase terakhir, biofilm mengalami maturasi, ditandai dengan peningkatan kompleksitas struktural dan stabilitas biofilm. Maturasi ini juga diikuti oleh penyebaran biofilm ke permukaan lain di dalam rongga mulut, sehingga memungkinkan penyebaran mikroorganisme ke area yang lebih luas, yang dapat mempengaruhi kesehatan gigi dan gusi secara keseluruhan (Biradar et al., 2017)

1.2.2 Flora Oral Normal dan Patologis

Mikrobioma atau flora oral normal adalah ekosistem yang sangat luas dan kompleks yang terdiri dari berbagai jenis mikroorganisme, termasuk bakteri, fungi, virus, dan protozoa. Rongga mulut merupakan tempat bagi populasi bakteri yang sangat beragam, dengan lebih dari 50 spesies yang berbeda. Beberapa di antaranya yang paling umum ditemukan adalah *Streptococcus*, *Staphylococcus*, dan *Lactobacillus*. Setiap spesies memiliki peran dalam menjaga keseimbangan mikroba di dalam mulut serta berinteraksi dengan jaringan di sekitarnya (Radaic & Kapila, 2021)

Pada tahap kolonisasi awal, bakteri yang pertama kali menempati rongga mulut umumnya adalah spesies yang mampu hidup dalam kondisi aerob dan anaerob fakultatif, artinya mereka dapat bertahan dalam kondisi dengan atau tanpa oksigen. Bakteri ini mampu menyesuaikan diri dengan berbagai kondisi fisiologis yang terjadi dalam rongga mulut, seperti variasi suhu, pH, dan tingkat kelembaban. Adaptasi ini memungkinkan bakteri untuk bertahan hidup dan berkembang biak di lingkungan mulut yang dinamis, sehingga turut membentuk ekosistem mikroba yang seimbang. Keseimbangan ini sangat penting dalam menjaga kesehatan mulut karena setiap mikroorganisme berkontribusi pada fungsi tertentu, baik melalui



metabolisme zat, stimulasi respons imun, maupun perlindungan terhadap patogen asing (Caselli et al., 2020)

Flora oral normal berperan penting sebagai bagian integral dalam menjaga fungsi dan Kesehatan rongga mulut. Dalam kondisi seimbang, mikrobioma oral mendukung fungsi rongga mulut secara keseluruhan dengan membantu mencegah infeksi dan menjaga stabilitas ekosistem mikroba. Namun, keseimbangan ini dapat terganggu dan berubah menjadi patogenik ketika terjadi kondisi yang disebut disbiosis. Disbiosis adalah keadaan meningkatnya populasi salah satu spesies bakteri secara berlebihan, yang pada akhirnya mengganggu interaksi yang seharusnya harmonis antara berbagai populasi bakteri dalam rongga mulut. Ketidakseimbangan ini menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan patogen dan mengganggu kesehatan gigi dan mulut secara keseluruhan (Radaic & Kapila, 2021)

Beberapa faktor yang dapat memicu terjadinya dysbiosis antara lain adalah kebersihan rongga mulut yang tidak terjaga, konsumsi gula yang berlebihan, serta adanya inflamasi pada jaringan mulut. Kebersihan mulut yang buruk memungkinkan penumpukan plak, yang menjadi media ideal bagi pertumbuhan bakteri kesehatan. Sementara itu, konsumsi gula yang tinggi menyediakan substrat bagi bakteri tertentu, seperti *Streptococcus mutans*, untuk menghasilkan asam yang dapat merusak enamel gigi dan memperburuk kondisi mulut. Inflamasi pada jaringan gingiva juga dapat memperparah kesehatan, karena menyebabkan respons imun yang berlebihan yang dapat memengaruhi keseimbangan mikroba di rongga mulut. Kondisi disbiosis ini pada akhirnya tidak hanya meningkatkan risiko penyakit periodontal dan karies gigi, tetapi juga dapat berdampak pada kesehatan tubuh secara keseluruhan (Lamont et al., 2018; Radaic & Kapila, 2021).

1.3 Propolis

Propolis adalah lapisan tipis berwarna coklat yang menyelimuti kantung madu dan kantung *bee pollen*. Propolis merupakan produk penting bagi lebah yang digunakan sebagai komponen pertahanan, sistem imun eksternal, dan antimikroba. Terdapat bermacam jenis lebah



yang dapat menghasilkan propolis. Jenis lebah yang dikenal mampu menghasilkan propolis dalam jumlah banyak, yaitu lebah jenis *Trigona* sp. Lebah *Trigona* sp. merupakan jenis lebah asli Asia yang memiliki karakteristik spesifik, yaitu madu yang dihasilkan mempunyai rasa asam namun tahan terhadap fermentasi dan bersifat jarang sekali berpindah tempat, serta harga produk madunya lebih tinggi dibandingkan dengan madu produk lebah genus *Apis*. Lebah *trigona* spp. menghasilkan madu *trigona*. Kekhasan lebah *trigona* sp. Dibandingkan dengan jenis lebah lainnya adalah tidak ditemukannya sengat pada lebah jenis ini (*stingless bees*). Ukuran lebah *trigona* juga lebih kecil dibandingkan jenis lainnya (Nuralyza et al., 2024).

Propolis mengandung berbagai komponen bioaktif. Bioaktif yang terkandung dalam propolis didominasi oleh flavonoid, dengan kadar hampir 50%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak propolis mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid dan minyak atsiri. Penggunaan propolis dari sisa perasan madu *trigona* masih sangat jarang dilakukan. Peternak lebah *trigona* biasanya akan membuang sisa hasil perasan madu atau dibiarkan menumpuk begitu saja. Hal ini disebabkan kondisi asal propolis bercampur dengan lilin lebah yang membentuk sarang dan menyelimuti madu lebah *trigona*. Konsumsi propolis yang masih bercampur lilin dapat menimbulkan masalah pencernaan, sehingga jarang dikonsumsi langsung (Tri Isti Rahayu et al, 2024).

Propolis yang banyak dikonsumsi dan mempunyai nilai jual tinggi adalah propolis hasil ekstraksi yang telah dipisahkan dari komponen lain yang mengganggu seperti lilin. Proses ekstraksi sederhana yang dapat dilakukan adalah dengan proses perebusan. Panas akan menyebabkan lilin mencair dan propolis yang ada pada lilin terlarut di dalam air. Saat proses pendinginan, lilin akan memadat kembali sehingga bisa dipisahkan dari air yang tercampur dengan propolis. Hanya saja, penggunaan panas berlebih pada metode ini dikhawatirkan akan merusak sebagian senyawa bioaktif penting pada propolis. Metode lainnya yang dapat dilakukan untuk ekstraksi propolis adalah dengan ekstraksi menggunakan pelarut organik. Hanya saja, proses ekstraksi ini



membutuhkan biaya yang mahal dan peralatan yang sulit untuk memastikan propolis yang dihasilkan benar-benar aman dikonsumsi dan tidak mengandung residu pelarut yang digunakan. Alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan pelarut air yang aman dan murah. Optimasi proses ekstraksi dengan air ini dapat dikombinasikan dengan berbagai metode ekstraksi seperti maserasi dingin, infundasi dengan kontrol suhu, menggunakan gelombang suara, *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), hingga penggunaan gelombang *Microwave Assisted Extraction* (MAE) untuk membantu mengeluarkan propolis dari matriks campurannya dengan lilin. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan proses ekstraksi menggunakan UAE 90 menit dan MAE 3 menit dengan pelarut air mampu menghasilkan ekstrak dengan komponen bioaktif yang diinginkan (Tri Isti Rahayu et al, 2024).

Penelitian mengenai metode optimasi proses ekstraksi propolis lebih triguna menggunakan pelarut air perlu dilakukan. Hasil ekstraksi ini nantinya dapat dikonsumsi langsung atau dapat lebih mudah diaplikasikan untuk menghasilkan berbagai produk makanan atau minuman fungsional seperti jamu dan lainnya yang dapat meningkatkan keamanan maupun masa simpan produk karena kandungan senyawa bioaktifnya juga dapat berperan sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan ekstraksi propolis yang optimal dengan menggunakan pelarut air dipadukan dengan metode ekstraksi maserasi dingin, maserasi panas (suhu 60°C), *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) (Tri Isti Rahayu et al, 2024).

1.3.1 Komponen Propolis

Propolis diketahui mengandung resin dan banyak bahan bioaktif. Kandungan propolis yang diduga penting untuk pergerakan gigi diantaranya adalah bioflavonoid, artemisin, *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) yang mempunyai peranan dalam penanggulangan inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antivirus, imunomodulator serta merangsang penyembuhan jaringan. (Handayani & Brahmanta, 2018).



Beberapa komponen utama yang terkandung dalam propolis adalah: (Handayani & Brahmanta, 2018; Hasan et al., 2011; Šuran et al., 2021)

- a. Flavonoid, salah satu kelompok senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan dalam propolis. Flavonoid berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.
- b. Fenolik, seperti asam fenolat dan ester asam fenolat, juga merupakan komponen utama propolis. Asam fenolat berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, dan agen antiinflamasi. Salah satu komponen fenolik yang paling penting dalam propolis adalah asam caffeic (*caffeic acid*), yang memiliki efek antimikroba dan imunomodulator.
- c. Terpenoid, senyawa organik yang ditemukan dalam propolis, yang sering bertanggung jawab atas aroma khas propolis. Senyawa terpenoid ini termasuk asam ursolat, asam oleanolat, dan asam betulinat. Terpenoid memiliki berbagai sifat biologis, seperti antimikroba, antiinflamasi, dan analgesik.
- d. Alkaloid, berperan dalam meningkatkan aktivitas antibakteri, antivirus, dan antijamur.
- e. Asam amino, berfungsi dalam pembentukan protein dan metabolisme tubuh. Asam amino seperti arginin, glisin, alanin, dan asam glutamat ditemukan dalam propolis dan berkontribusi terhadap sifat penyembuhannya, terutama dalam mempercepat proses regenerasi dan penyembuhan jaringan.
- f. Vitamin dan mineral, seperti vitamin A, B, C, E, dan beberapa mineral seperti magnesium, zinc, dan kalsium. Vitamin dan mineral ini berperan dalam mendukung fungsi sistem kekebalan tubuh dan mempercepat penyembuhan luka.
- g. Lilin dan lemak, memberi tekstur kental dan viskositas pada propolis.



1.3.2 Aktivitas Farmakologis Propolis

Beberapa sifat biologis utama propolis meliputi: (Šuran et al., 2021; Zhang et al., 2022),

- a. Aktivitas antimikroba yaitu kemampuan antibakteri, antivirus, dan antijamur yang sangat kuat. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa propolis dapat melawan patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Hal ini menjadikannya bahan yang efektif dalam pengobatan infeksi saluran pernapasan, luka, dan infeksi kulit.
- b. Aktivitas antioksidan yaitu kandungan flavonoid dan fenolik dalam propolis berfungsi sebagai antioksidan kuat yang melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Propolis juga dapat membantu mencegah penuaan dini, kerusakan DNA, dan berbagai penyakit degeneratif terkait oksidasi.
- c. Anti inflamasi yaitu dapat membantu mengurangi peradangan dalam tubuh, yang dapat berperan dalam mengatasi berbagai kondisi inflamasi seperti artritis, penyakit radang usus, dan infeksi.
- d. Penyembuhan luka yaitu merangsang proliferasi sel dan sintesis kolagen. Propolis juga membantu mengurangi pembengkakan dan peradangan di sekitar luka.
- e. Imunomodulasi yaitu mengatur sistem kekebalan tubuh, baik dengan meningkatkan respons imun terhadap infeksi maupun dengan mengurangi reaksi imun yang berlebihan (seperti pada alergi). Propolis berperan dalam meningkatkan aktivitas makrofag, sel T, dan sel B dalam tubuh.
- f. Aktivitas antikanker yaitu flavonoid dan terpenoid menunjukkan potensi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dan menginduksi apoptosis (kematian sel terprogram) pada beberapa jenis kanker, seperti kanker payudara dan kanker usus besar. Selain itu penelitian menyebutkan aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA bakteri sehingga dapat menghambat kemampuan replikasi dan translasi.



1.3.3 Keamanan Dosis Propolis

Propolis dan komponen-komponennya umumnya dapat diterima dengan baik dan tidak beracun kecuali diberikan dalam dosis besar menurut studi klinis pada tikus dan manusia. Menurut Dobrowolski et al., dosis mematikan median (LD50) untuk berbagai sumber propolis berkisar antara 2 hingga 7,3 g/kg pada tikus, yang mengimplikasikan dosis yang aman untuk manusia sekitar 1,4 hingga 70 mg/hari. LD50 dari ekstrak propolis yang diberikan kepada tikus yang sadar lebih dari 7,34 g/kg menunjukkan bahwa produk ini umumnya aman. Namun, perlu dicatat bahwa toksisitas propolis dan kejadian yang merugikan jarang dipantau dalam uji coba pada manusia. Hipersensitivitas adalah efek samping yang lebih umum dari propolis, terutama ketika diterapkan secara topikal, yang mengakibatkan reaksi alergi, pembengkakan, dermatitis, dan urtikaria. Hsu et al. melaporkan seorang pasien yang mengalami pembengkakan parah pada tenggorokan dan syok anafilaktik setelah aplikasi topikal propolis. Efek samping parah seperti edema laring dan syok anafilaktik telah dilaporkan jarang dan jarang dikaitkan dengan propolis. Sensitivitas terhadap propolis telah dilaporkan pada 1,2–6,6% orang dengan dermatitis (Ekeuku & Chin, 2021).

1.3.4 Propolis dan Kolonisasi Bakteri

Salah satu manfaat utama propolis adalah kemampuannya menghambat kolonisasi bakteri, yang berkontribusi pada pembentukan plak gigi dan perkembangan infeksi rongga mulut. Senyawa bioaktif dalam propolis, seperti flavonoid dan asam fenolat, diketahui efektif melawan berbagai bakteri patogen yang menjadi penyebab utama plak dan penyakit periodontal (Šabanović et al., 2019)

Penelitian mengenai propolis merah menunjukkan bahwa penggunaannya pada pasien dengan piranti ortodontik dapat menurunkan jumlah bakteri gram negatif secara signifikan. Hal ini menunjukkan potensi propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang sering meningkat akibat akumulasi plak selama perawatan ortodontik. Selain itu, pengurangan kolonisasi bakteri ini juga berkontribusi pada perbaikan kondisi gingiva, seperti pengurangan



pendarahan dan inflamasi, yang sering terjadi pada pasien dengan perawatan ortodontik (Furtado Júnior et al., 2020)

Sifat antioksidan propolis juga mendukung pengendalian kolonisasi bakteri dengan mengurangi stres oksidatif yang memengaruhi respon imun jaringan. Propolis mampu menurunkan kadar malondialdehyde, marker stres oksidatif yang meningkat dalam kondisi inflamasi akibat aktivitas bakteri. Selain itu, propolis merangsang aktivitas osteoblast yang mendukung proses remodeling tulang selama pergerakan gigi dalam perawatan ortodontik. Dengan menghambat kolonisasi bakteri dan mengurangi inflamasi, propolis berkontribusi pada kesehatan jaringan periodontal serta mendukung kestabilan gigi selama perawatan ortodontik, menjadikannya pilihan tambahan yang efektif dalam menjaga kesehatan rongga mulut (Wiwekowiati et al., 2020)

1.4 *Temporary Anchorage Device (TAD)*

Temporary Anchorage Device (TAD) adalah alat yang dipasang sementara pada tulang untuk tujuan meningkatkan penjangkaran pada perawatan ortodontik baik dengan menyangga gigi atau dengan meniadakan kebutuhan penjangkaran secara keseluruhan, dan yang kemudian dilepas setelah digunakan. Alat tersebut dapat ditempatkan secara transosteal, subperiosteal, atau endosteal; dan dapat dipasang pada tulang baik secara mekanis (distabilkan secara kortikal) atau secara biokimia (terintegrasi secara osseo). Perlu juga ditunjukkan bahwa implan gigi yang dipasang untuk tujuan akhir menyangga prostesis, terlepas dari kenyataan bahwa implan tersebut dapat digunakan untuk penjangkaran ortodontik, tidak dianggap sebagai alat penjangkaran sementara karena dilepas dan dibuang setelah perawatan ortodontik. Yang terpenting, penggabungan implan gigi dan TAD ke dalam perawatan ortodontik memungkinkan penjangkaran tak terbatas, yang telah didefinisikan dalam istilah implan sebagai tidak menunjukkan pergerakan (kehilangan penjangkaran nol) sebagai akibat dari gaya reaksi. Implan mini atau Orto-implant telah membawa revolusi signifikan dalam bidang Ortodontik klinis. Beberapa keunggulan TAD yaitu, kemudahan dalam pemasangan dan pelepasan, kenyamanan untuk



pasien, dan terutama untuk memberikan penjangkaran absolut untuk pergerakan gigi dengan variasi yang beragam (Baxi et al., 2023).

1.4.1 Klasifikasi TAD

Adapun klasifikasi TAD berdasarkan jenis perangkat yang digunakan: (Jandial et al., 2021)

- a. Implan Endosseous
- b. Implan endosseous adalah implan yang terintegrasi dengan tulang (osseointegrasi) yang dapat menahan gaya mekanik lebih besar dibandingkan dengan implan yang mengandalkan daya tahan mekanis. Kelemahan dari jenis implan ini adalah adanya periode tunggu sebelum pemberian beban, prosedur bedah yang lebih ekstensif diperlukan untuk tindakannya, dan pengangkatan implan yang sulit. Jenis implan ini sebelumnya digunakan di langit-langit mulut untuk distalisasi molar.
- c. *Surgical miniplate*
- d. Miniplate bedah titanium yang dimodifikasi atau konvensional dengan ekstensi intraoral dapat digunakan sebagai alat penjangkar ortodontik. Daerah dengan tulang kortikal yang tebal, seperti wilayah *zygomatic* dan area *buccal shelf* pada mandibula, cocok untuk implan jenis ini. Penerapan implan ini mencakup distalisasi molar dan intrusi segmen bukal pada kasus *open bite*. Kelemahan implan ini adalah perlunya prosedur bedah yang ekstensif dan ketidaknyamanan pasca-operasi bagi pasien.
- e. *Miniscrew* implant
- f. Implan ini memiliki daya tahan mekanis dan memberikan *anchorage* jangka pendek dalam ortodontik. Diameter kecil dari sekrup ini memberikan fleksibilitas tinggi untuk pemilihan tempat pemasangan. Tulang inter-radikular adalah Lokasi yang paling umum untuk pemasangan implan jenis ini. Implan ini merupakan unit *anchorage* absolut yang digunakan dalam ortodontik.

Implan dental, miniplate dan *miniscrew* lebih sering digunakan sebagai penjangkaran ortodonti, namun miniscrew merupakan tipe



penjangkaran yang paling umum digunakan saat ini karena biayanya murah dan pemasangannya mudah. TAD telah menjadi inovasi penting dalam praktik ortodontik kontemporer, menawarkan implan yang dapat diandalkan untuk mencapai implan gigi yang efektif dan pergerakan gigi yang dapat diprediksi. Alat yang kecil dan berulir ini seperti implant, biasanya terbuat dari titanium atau bahan biokompatibel lainnya, yang dimasukkan ke dalam tulang alveolar sementara untuk memberikan titik jangkar yang tetap. Hal ini memungkinkan penerapan gaya ortodontik yang tepat tanpa bergantung pada kepatuhan pasien atau kebutuhan untuk perangkat ekstraoral. (Bawyan et al., 2021; Baxi et al., 2023; Ritchie et al., 2023).

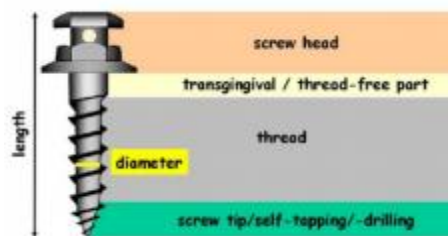
1.4.2 Desain dan Komponen TAD

Desain dan komponen konvensional dari *miniscrew* implants yaitu: (Yadav et al., 2024)

a. Kepala

Kepala TAD adalah bagian dari sekrup dan menyediakan tempat untuk pemasangan pegas dan elastik. Kepala sekrup ini memiliki slot untuk obeng atau desain khusus untuk memasang mini-sekrup dengan alat sekrup. Berbagai desain kepala tersedia untuk berbagai jenis *anchorage* dan untuk mencegah iritasi jaringan lunak. Desain yang paling umum adalah desain mirip tombol dengan bentuk bola atau bola ganda atau bentuk heksagonal. Lubang dengan diameter 0,8 mm pada kepala atau leher sekrup umumnya digunakan untuk *anchorage* langsung. Selain itu, desain mirip bracket juga tersedia yang dapat digunakan untuk kedua jenis *anchorage*. Kepala sekrup ini mencakup lubang dan kerah. Bagian- Bagian Screw dapat dilihat pada gambar 1.2





a.

b. **Gambar 1.1** Komponen TAD (Jandial et al., 2021)

c. Leher

Leher sekrup atau bagian trans-mukosal melewati mukosa dan menghubungkan sekrup dengan kepala. Tersedia panjang leher yang bervariasi untuk ketebalan mukosa yang berbeda. Permukaan leher harus halus dan dipoles dengan baik untuk mengurangi akumulasi plak di sekitar leher. Persimpangan TAD dengan mukosa sangat penting karena sebagian besar kegagalan implan akibat periimplantitis biasanya dimulai dari area ini.

d. Sekrup (*screw*)

Bagian ini tertanam di tulang kortikal untuk memberikan retensi. Benang sekrup di sekitar batang atau tubuh utama TAD memiliki ujung pemotong yang memfasilitasi pemasangan. Kedalaman ujung pemotong dan sudutnya menentukan tegangan yang dihasilkan selama pemasangan serta jumlah torsi pemasangan yang diperlukan. Desain benang bisa berbentuk kerucut seperti pada mini-sekrup atau menyempit secara paralel hanya di ujungnya seperti pada Orthodontic Mini Implant. Gambar 2.2 menunjukkan berbagai jenis mini-sekrup. Panjang TAD didefinisikan sebagai panjang tubuh berulir. Panjangnya bisa berkisar antara 5-12 mm untuk berbagai prosedur klinis sesuai dengan pertimbangan anatomi. Costa et al. mengevaluasi kedalaman jaringan keras dan lunak intraoral dan menetapkan bahwa implan mini-sekrup dengan panjang 4-6 mm aman di sebagian besar daerah, tetapi bisa bervariasi tergantung pada kedalaman tulang pasien individu.

Panjang total sekrup ditentukan oleh panjang sekrup, leher, dan kepala. Diameter utama TAD adalah diameter maksimum yang ditentukan oleh diameter luar benang dan bisa berkisar antara 1,2 - 2

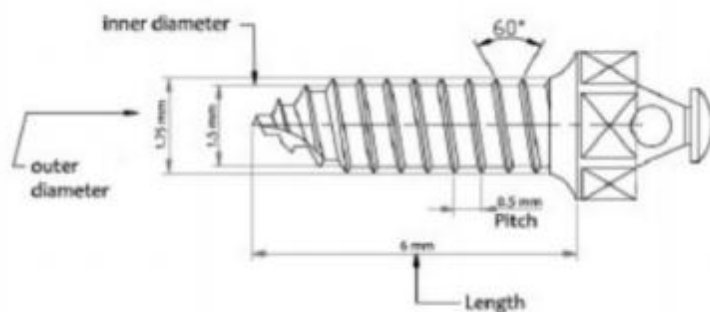


mm. Diameter lebih besar dari 2mm sebaiknya tidak digunakan di daerah inter-radikular dan diameter kurang dari 1,2 mm lemah serta rentan patah. Diameter *minor* mengacu pada diameter inti dalam, yang biasanya berkisar antara 0,2 hingga 1,6mm. *Pitch* sekrup adalah jarak antara dua benang. *Pitch* yang tinggi menunjukkan benang yang terpisah jauh, dan sebaliknya. Sekrup dengan *pitch* lebih besar akan dipasang dengan kecepatan yang lebih cepat.



Gambar 1.2 Jenis TAD (Joseph, 2020)





Gambar 1.3 Fitur desain dari *miniscrew* (Joseph,2020)

1.4.3 Indikasi dan Kontraindikasi TAD

Indikasi penggunaan TAD yaitu: (Jandial et al., 2021; Yadav et al., 2024)

- a. Jumlah elemen gigi yang tidak mencukupi dan/kurangnya penjangkaran, misalnya pasien dengan edentulous parsial atau agenesis.
- b. Ekstruksi atau intrusi gigi individu atau kelompok gigi tanpa antagonis (yaitu dengan tidak adanya kekuatan berlawanan vertikal yang bekerja pada gigi tersebut, untuk kebutuhan mempertahankan atau mengembalikan oklusi yang tepat dan untuk menghindari pembentukan gangguan fungsional
- c. Gerakan asimetris
- d. Pergerakan gigi molar bagian mesial/distal yang tidak dapat digerakan
- e. Penutupan ruang
- f. Koreksi *open bite*

Kontraindikasi penggunaan TAD yaitu: (Jandial et al., 2021)

- a. Pasien dengan penyakit tulang metabolik
- b. Pasien yang sedang menjalani terapi penekan sistem kekebalan tubuh



- c. Pasien yang sedang menjalani terapi kronis dengan steroid atau bisfosfonat
- d. Pasien dengan masalah neurologis atau psikologis yang parah
- e. Pasien dengan kualitas atau kuantitas jaringan tulang yang buruk untuk stabilitas primer
- f. Pasien dengan infeksi atau masalah sirkulasi
- g. Pasien dengan reaksi alergi terhadap bahan tertentu
- h. Pasien yang menerima radioterapi di daerah kepala dan leher atau penyakit mukosa oral yang kambuh
- i. Pasien dengan diabetes tipe insulin-dependent, yang lebih rentan terhadap infeksi
- j. Pasien dengan kebersihan mulut yang buruk
- k. Pasien yang belum menyelesaikan pertumbuhan skeletal

1.4.4 Daerah dan Arah Pemasangan TAD

Daerah maxilla, TAD dapat dipasang di fossa insisif, fossa kaninus, punggung infra-zygomatik, daerah pre-maxillary, atau daerah mid-palatal. Pada mandibula, TAD dapat dipasang di simfisis, fossa kaninus, punggung obliquus eksternal anterior, area retro-molar, atau fossa sub-maxillary. Penelitian menunjukkan bahwa implan yang paling aman untuk pemasangan TAD di maxilla adalah di bagian anterior dan apikal, sementara daerah tuberositas adalah yang paling tidak cocok untuk pemasangan implant karena ketebalan tulang yang berkurang di daerah ini. Di mandibula, yang paling aman adalah antara molar pertama dan kedua serta antara premolar pertama dan kedua. Di palatum, dukungan tulang terkuat untuk pemasangan implan ditemukan 6 hingga 9 mm posterior dari foramen insisif dan 3 hingga 6 mm paramedian. (Bawyan et al., 2021)

Implan *miniscrew* dimasukkan secara oblik ke arah apikal di maxilla dan sejajar dengan akar gigi di mandibula. Di maksila, sudut penyisipan adalah 30° hingga 40° terhadap sumbu panjang gigi, sementara di mandibula adalah 10° hingga 20°. Di daerah sinus maksilaris, disarankan untuk memasukkan implant mini dengan arah



yang lebih tegak lurus untuk meminimalkan kemungkinan perforasi pada sinus maksilaris.(Ivan et al., 2014; Ritchie et al., 2023)

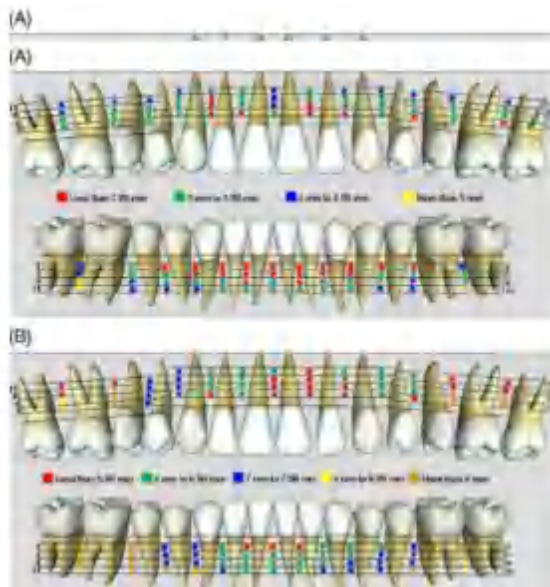
Secara umum, posisi pemasangan TAD pada rahang atas dan rahang bawah yaitu : (Jandial et al., 2021; Ritchie et al., 2023)

a. Pada rahang atas yaitu antara premolar kedua dan molar permanen pertama Antara molar permanen pertama dan kedua, antara dua insisivus sentral, yang sangat baik untuk intrusi, daerah infrazygomatik ≤ penyangga zygomatic, daerah palatal di mana ketebalan dan kualitas tulang kortikal sangat baik, daerah tuberositas

b. Pada rahang bawah yaitu antara premolar kedua dan molar permanen pertama, antara molar permanen pertama dan molar permanen kedua, antara dua insisivus sentral, antara kaninus mandibula dan premolar arah bukal, area retromolar, area simfisis mandibula arah fasial.

Daerah yang harus dihindari adalah: Beberapa struktur anatomi dan vital yang harus diperhatikan selama pemasangan mikro-implan meliputi saraf alveolar inferior, arteri, vena, foramen mental, sinus maksilaris, dan rongga hidung. Implan ini relatif dekat dengan bidang kawat lengkung, gaya yang diterapkan untuk memindahkan gigi dan pengendalian gaya balasan yang dihasilkan menjadi lebih mudah. Sekrup yang digunakan untuk tujuan anchorage ortodontik harus tipis (1,3mm hingga 1,5mm) dan meruncing untuk mencegah kontak akar yang tidak sengaja (Gambar 1.4). Secara umum, untuk maxilla panjang seharusnya 8mm hingga 10mm dan untuk mandibula panjang seharusnya 6mm hingga 8mm karena tulang yang padat.(Tian et al., 2020).





Gambar 1.4 Tempat Pemasangan TAD (A) Zona aman dan zona berbahaya berdasarkan jarak mesiodistal di maksila dan mandibula; (B) Zona aman dan zona berbahaya berdasarkan jarak bukopalatal di maksila dan jarak bukolingual di mandibula. Area merah menunjukkan zona berbahaya, sementara area hijau, biru, kuning, dan oranye menunjukkan zona aman (Yadav et al., 2024).

1.4.5 Fungsi TAD dalam Perawatan Ortodontik

TAD atau *Temporary Anchorage Device* memiliki peran yang penting dalam ortodontik sebagai alat untuk memberikan stabilisasi yang efektif dalam pergerakan gigi selama perawatan. TAD memberikan titik penjangkaran sementara yang kuat, memungkinkan ortodontis untuk menggerakkan gigi dengan presisi tanpa menyebabkan pergeseran atau kehilangan posisi pada gigi penjangkaran, khususnya gigi molar. Salah satu aplikasi TAD yang umum adalah dalam prosedur retraksi *en-masse*, di mana seluruh kelompok gigi anterior ditarik bersamaan ke arah posterior. Kondisi tersebut sangat berguna dalam merawat kondisi



protrusi bimaxilla, serta dalam prosedur intrusi yang mengharuskan perubahan posisi gigi yang untuk mendapatkan interdigitasi yang ideal (Ritchie et al., 2023).

Selain itu, TAD juga berperan penting dalam kasus gigi impaksi atau *uprighting*, gigi yang impaksi atau miring diperbaiki posisinya. Pada kondisi ini, TAD berfungsi sebagai titik penjangkaran yang memungkinkan tarikan ortodontik terjadi dengan stabil, sehingga gigi dapat digerakkan ke posisi yang diinginkan tanpa menyebabkan efek samping pada gigi yang tetangga. Aplikasi ini sangat penting dalam menghindari gaya berlebihan pada gigi tetangga, yang dapat mengakibatkan ketidakstabilan atau kerusakan gigi (Greco & Machoy, 2022).

TAD juga efektif digunakan untuk derotasi gigi, khususnya pada gigi premolar atas. Dalam konteks ini, TAD digunakan sebagai alat stabilisasi rotasi, yang memungkinkan ortodontis melakukan derotasi dengan presisi, meminimalkan dampak negatif pada gigi yang bersebelahan. Derotasi dengan TAD mengurangi risiko gigi berputar kembali ke posisi awal, sekaligus menjaga stabilitas struktur gigi yang lainnya. (Nanda et al., 2020)

1.4.6 Adesi Mikroba pada Permukaan TAD

Perawatan ortodonti dari hari ke hari mengalami revolusi yang sangat pesat, hal ini dibuktikan dengan banyaknya material baru yang mulai digunakan dalam perawatan ortodonti yang memiliki permukaan dan tingkat kekasaran yang berbeda. Namun secara ilmiah, perlekatan bakteri pada perawatan ortodontik merupakan tantangan yang belum terselesaikan. Alat ortodontik cekat selalu dikaitkan dengan peningkatan plak akumulasi, kolonisasi bakteri, dan dekalsifikasi. Kolonisasi mikroorganisme di dalam mulut akibat komponen cekat menciptakan area retensi tambahan yang memfasilitasi kolonisasi bakteri dan menyebabkan peningkatan jumlah mikroorganisme, ligatur elastomer merupakan salah satu komponen alat cekat yang memungkinkan terjadinya kolonisasi mikroorganisme. Komponen-komponen alat cekat yang melekat pada gigi pasien selama kurang lebih 1-2 tahun akan



berinteraksi dengan keadaan lingkungan rongga mulut yang mengandung berbagai jenis bakteri yang bersifat komensal (Ranggang & Dewi, 2020).

TAD yang mengalami kegagalan sering kali memiliki komunitas bakteri tertentu yang berperan dalam terjadinya masalah tersebut. Beberapa bakteri yang telah teridentifikasi dan diasosiasikan dengan kegagalan TAD antara lain *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, dan *Parvimonas spp.* Keberadaan bakteri-bakteri ini memiliki peran yang signifikan dalam pembentukan biofilm yang mengalami adesi pada permukaan TAD, serta dalam proses kemotaksis bakterial, yaitu pergerakan bakteri menuju sumber zat yang mengarah ke TAD. Proses ini dapat meningkatkan adesi atau kemampuan bakteri untuk melekat pada permukaan TAD, yang pada akhirnya memperkuat kolonisasi bakteri tersebut. Biofilm yang terbentuk pada permukaan TAD menjadi lebih sulit untuk dihilangkan, dan koloni bakteri ini dapat menyebabkan peradangan serta infeksi pada area sekitar TAD, yang berkontribusi pada kegagalan penggunaannya dalam perawatan ortodontik (Zhao et al., 2023).

Adesi mikroba pada permukaan TAD dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah bahan dan kekasaran permukaan TAD itu sendiri. TAD umumnya terbuat dari alloy titanium, yang dikenal karena ketahanannya terhadap korosi dan kekuatannya. Namun, selama proses pemasangan atau insersi, permukaan TAD dapat mengalami perubahan mikrostruktural yang meningkatkan kekasaran permukaan. Kekasaran permukaan ini menciptakan area yang lebih mudah bagi bakteri untuk menempel dan membentuk biofilm. Oleh karena itu, meskipun titanium adalah bahan yang umum digunakan untuk TAD, perubahan permukaan yang terjadi selama insersi dapat meningkatkan potensi bakteri untuk berkolonisasi dan membentuk lapisan biofilm, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi keberhasilan penggunaan TAD dalam perawatan ortodontik. Pemahaman lebih lanjut mengenai bagaimana kekasaran dan perubahan permukaan ini berhubungan dengan adesi bakteri dapat membantu dalam pengembangan bahan atau desain TAD yang lebih efektif dalam mengurangi risiko kegagalan (Latag et al., 2023; Ivan et al., 2014)



1.5 Rumusan Masalah

- a. Apakah terdapat perbedaan tingkat kolonisasi bakteri pada rongga mulut pengguna *Temporary Anchorage Device* (TAD) dengan aplikasi propolis dibandingkan dengan tanpa aplikasi propolis?
- b. Bagaimana efektifitas aplikasi propolis dalam mengurangi jumlah koloni bakteri pada rongga mulut pengguna *Temporary Anchorage Device* (TAD)?

1.6 Hipotesis

- a. Terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri pada rongga mulut pengguna TAD yang diaplikasikan propolis dibandingkan tanpa aplikasi propolis.
- b. Propolis efektif dalam mengurangi jumlah koloni bakteri pada pengguna TAD.

1.7 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri yang terbentuk dengan aplikasi propolis dan tanpa aplikasi propolis dalam pengguna TAD.
- b. Untuk mengetahui efektifitas dari propolis dalam mengurangi jumlah koloni bakteri dalam pengguna TAD dengan aplikasi propolis.

1.8 Manfaat Penelitian

1.8.1 Manfaat Ilmiah

- a. Memberikan pengetahuan tambahan tentang perbedaan Tingkat kolonisasi bakteri pada pengguna TAD dengan aplikasi propolis dan tanpa aplikasi propolis
- b. Bagi PPDGS Universitas Hassanudin dapat dijadikan sebagai data untuk dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dikemudian hari

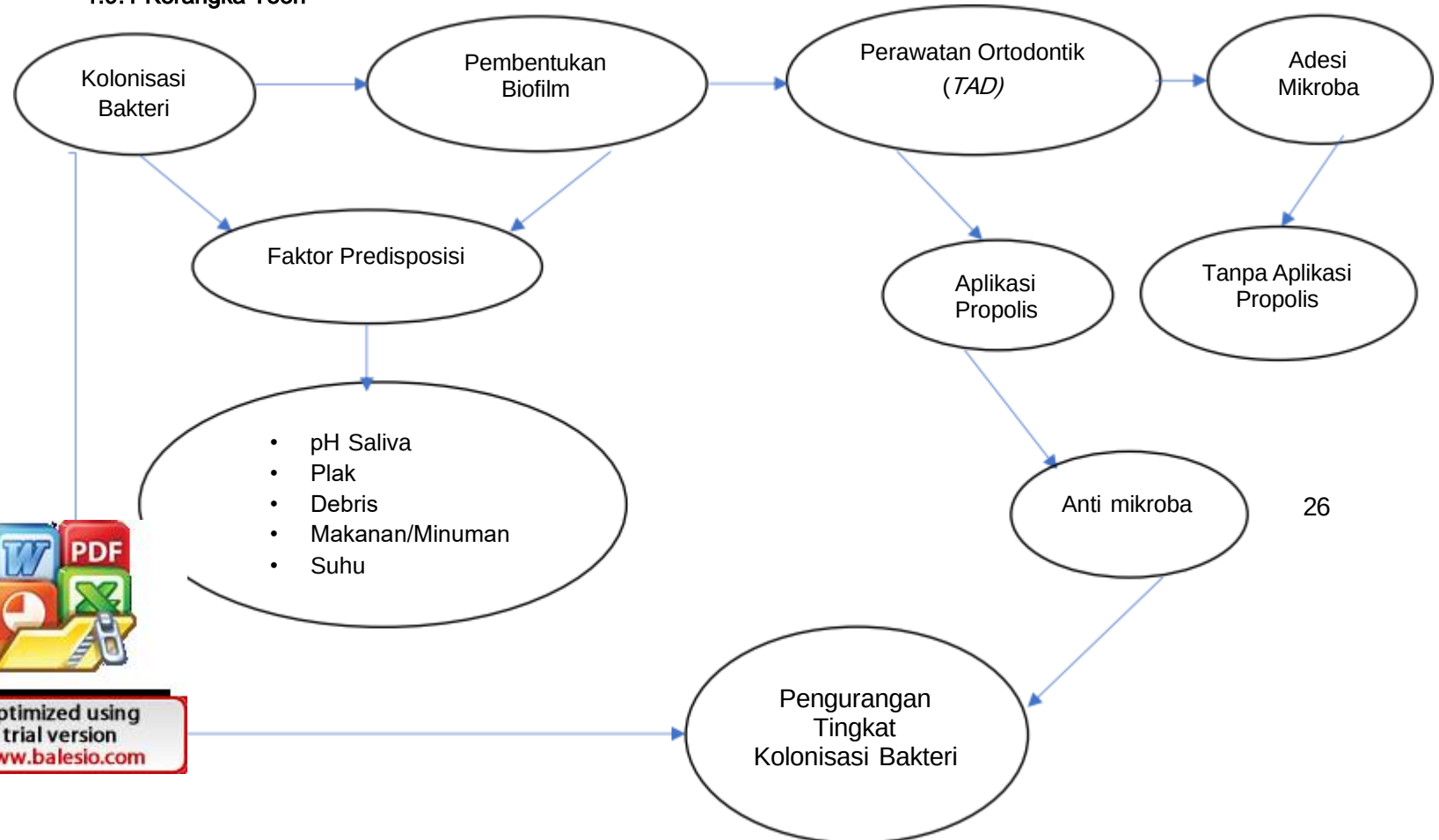
1.8.2 Manfaat Aplikatif

Dapat menjadi bahan digunakan dalam perawatan ortodonti khususnya yang menggunakan TAD untuk terapi tambahan yang aman dan efektif.

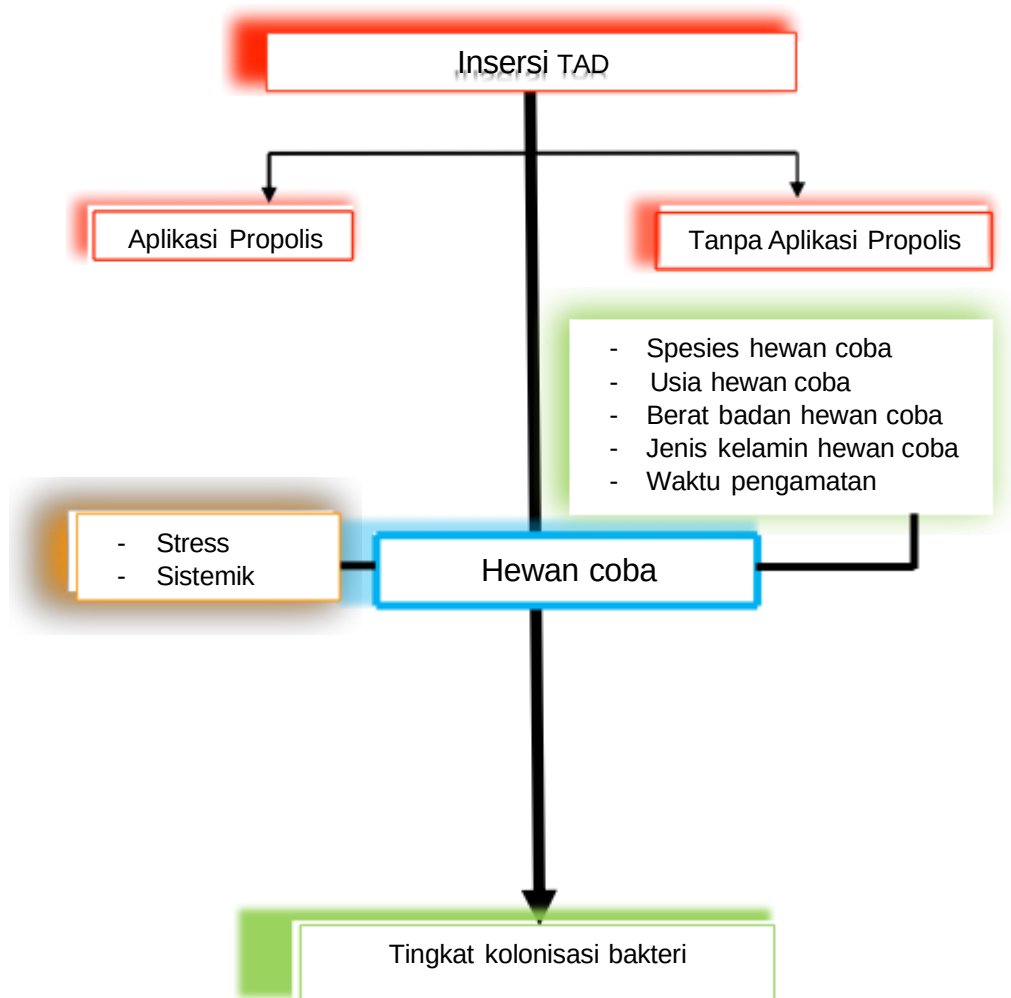


1.9 Teori Konseptual

1.9.1 Kerangka Teori



1.9.2 Kerangka Konsep



Keterangan :

Variable Independent

Variabel dependent

Variabel kendali

Variabel tidak terkendali



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *Post-Test Only Control Group Design*.

2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.2.1 Lokasi Penelitian

- Proses perlakuan hewan coba dilakukan di laboratorium Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin
- Pembuatan Ekstrak Gel Propolis 10% *Trigona Sp* dilakukan di laboratorium Farmasi Universitas Hasanuddin
- Perhitungan jumlah bakteri dilakukan di Hum-RC Fakultas Kedokteran Universitas Hassanudin

2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2025

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1 Populasi

Populasi penelitian adalah hewan coba kelinci *New Zealand White* adalah *Oryctolagus cuniculus* berjenis kelamin jantan.

2.3.2 Sampel

Pemilihan sampel penelitian menggunakan teknik *total sampling*.

2.3.3 Besar Sampel

Pemilihan jumlah hewan coba mengacu pada rumus Indra 1999 yaitu :

$$n = \frac{(15 + p)}{p}$$

Keterangan:

n : Jumlah pengulangan/ besar sampel dalam kelompok

p : Jumlah perlakuan/ besarnya kelompok

Dalam penelitian ini jumlah kelompok perlakuan ada 8 kelompok, maka jumlah sampel yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah:

$$n = \frac{(15 + \#)}{\#}$$

$$n = \frac{(15 + 8)}{8}$$

$$n = \frac{23}{8}$$



$$n = 2,875$$

Berdasarkan jumlah minimum sampel yang diperbolehkan secara statistik dan tidak melanggar prinsip 3R (*Reduction, Replacement, and Refinement*) yaitu pada penelitian ini menggunakan hewan coba, jumlah sampel untuk tiap kelompok adalah 3 ekor.

Jadi jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 32 ekor kelinci. Keseluruhan kelinci akan dibagi menjadi 8 kelompok dan tiap kelompok terdiri atas 4 ekor kelinci pada masing-masing hari ke-0, 3, 7 dan 14.

2.4 Kriteria Penelitian

2.4.1 Inklusi

- Kondisi kelinci sehat
- Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak
- Berat badan kelinci 1,5 – 2 kg
- Jenis kelamin jantan
- Usia kelinci 4-6 bulan

2.4.2 Eksklusi

- Kelinci nampak sakit (tidak gerak aktif)
- Penurunan berat badan 10% setelah adaptasi
- Kelinci mati selama penelitian

2.5 Variabel Penelitian

2.5.1 Variabel *independent*

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak propolis 10% *Trigona Sp*

2.5.2 Variabel *dependent*

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kolonisasi bakteri

2.5.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- Usia hewan coba
- Berat badan hewan
- Spesies hewan coba
- Jenis kelamin hewan coba
- Desain Kandang
- Aplikasi Gel Propolis 10% *Trigona Sp*
- Merk TAD (Panjang, diameter dan Ullir)
- Lokasi Pemasangan TAD
- Waktu pengamatan

2.5.4 Variabel tidak Terkontrol

Hewan coba stress dan terdapat penyakit sistemik dan stress.



2.6 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Kriteria Objektif	Skala	Satuan
Ekstrak gel Propolis 10%	Ekstrak Gel propolis 10% adalah ekstrak yang dibuat dari propolis murni <i>Trigona Sp</i> dengan konsentrasi propolis sebanyak 10% dan sisanya sebesar 90% merupakan bahan basis gel yaitu CMC Na. Gel ini akan diaplikasikan disekitar area pemasangan <i>Temporary Anchorage Device</i> (TAD)	Pengolesan di sekitar area TAD dua kali sehari menggunakan <i>cotton bud</i> steril	Nominal	
<i>Temporary Anchorage Device</i> (TAD)	Perangkat ortodonti yang dipasang di tulang untuk memberikan titik tumpu dalam perawatan ortodonti. Dalam penelitian ini, TAD digunakan untuk memberikan cedera mekanik pada jaringan sekitar dan memicu proses regenerasi jaringan yang akan diamati setelah aplikasi gel propolis	Ukuran dan Lokasi pemasangan TAD yang seragam	Nominal	mm/cm



Jenis Bakteri yang Tumbuh	Jenis bakteri yang terdeteksi dan teridentifikasi melalui analisis sequencing berdasarkan urutan DNA yang diperoleh dari sampel rongga mulut.	Bakteri dianggap patogen jika ditemukan dengan relative abundance lebih dari 10% dalam sampel rongga mulut	Nominal/ Ordinal	Nama bakteri dan <i>relative abundance</i> (%)
Tingkat Koloni Bakteri	Jumlah dan komposisi bakteri yang terdeteksi pada rongga mulut kelinci pengguna TAD, yang dianalisis menggunakan teknik sequencing DNA (misalnya, 16S rRNA sequencing) untuk mengidentifikasi bakteri yang ada.	Kolonisasi bakteri dihitung berdasarkan persentase jumlah bakteri yang terdeteksi dibandingkan dengan total bakteri yang ada. Kriteria objektifnya adalah jika jumlah relatif dari bakteri patogen	Nominal/ Ordinal	<i>Relative abundance</i> (%) atau jumlah jenis bakteri

2.7 Alat Dan Bahan Penelitian

2.7.1 Alat Penelitian

- Kandang Hewan coba ukuran 80x30x60 cm
- Tempat makan dan minum hewan coba (Lion Star, Indonesia)
- Kassa dan Kapas Steril
- Handscoen*
- Masker
- Nierbeken*
- Pinset Anatomis
- Pinset Jaringan
- TAD Kit
- Pinset Anatomis

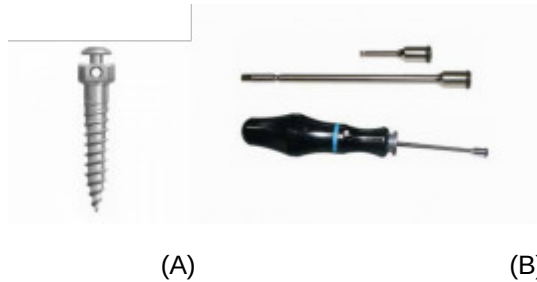


- m. Penggaris
- n. *Micropipete*
- o. *Multichannel Pippete*
- p. *Timer Digital*
- q. Tabung vitek
- r. Mesin PCR (Biorad),
- s. Gel DOC,
- t. Mesin Elektroforesis,
- u. *Sentrifuge*,
- v. *Waterbath*,
- w. *Laminal Flow*,
- x. BSCTipell,
- y. Mikropipet (1000 ul,100ul,20ul,10ul),
- z. Cetakan Agarosa,
- aa. Tips (1000 ul,100 ul,20 ul,10 ul),
- bb. Tabung efendorf,
- cc. TabungPCR,
- dd. *Erlenmeyer*,
- ee. Gelas Ukur,

2.6.2 Bahan Penelitian

- a. *Temporary Anchorage Device* (TAD) Merk Mico One (Panjang 10 mm, diameter 1,5 mm)
- b. Sukrosa 20%
- c. *Extraction solution*
- d. Alkohol 96%
- e. *Phosphate-buffered Saline* (PBS)
- f. Kertas saring
- g. Staining jar
- h. Objek glass (Sail Brand, China)
- i. Sarung tangan dan masker (Sensi Gloves, Indonesia)
- j. CMC Na
- k. Primer
- l. Forward 63f : 5'-CAG GCC TAA CACATG CAA GTC-3 Reverse 1387r : 5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3 Enzim PCR (Go Taq Master Mix Green),
- m. RNase Free water,
- n. Agarosa,
- o. Ethidium Bromida,
- p. TBE 0,5
- q. Leader / Marker (100 bp),





Gambar 2.1 *Miniscrew* merek Mico One

(Panjang 10 mm, Diameter 1,5 mm ; B. Screw Driver merek Mico One)

2.8 Prosedur Penelitian

2.8.1 Prosedur Pembuatan Ekstrak Propolis

- Propolis murni yang diambil adalah propolis *Trigona Sp* yang diambil dari pusat penangkaran Lebah Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin selanjutnya akan di ekstrak menjadi Propolis 10% dalam bentuk gel di Laboratorium Farmasi Universitas Hasanuddin dengan metode maserasi dengan cairan penyari etanol.
- Siapkan bahan *Trietanolamin (TEA)* 2 gram, propylene glycol 2 gram, dan nipagin 1 gram, dimasukkan ke dalam *beaker glass* lalu diaduk hingga homogen dan selanjutnya akuades steril ditambahkan hingga volume 150 ml lalu dipanaskan.
- Masukkan *CMC NA* 2 gram sedikit demi sedikit sambil diaduk secara terus menerus hingga membentuk massa gel, tunggu hingga dingin.
- Masukan propolis 15 ml, aduk hingga homogen.

2.8.2 Persiapan *Ethical Clearance*

Keterangan kelayakan etik penelitian yang diproses agar peneliti dapat melakukan penelitian dengan serangkaian kegiatan pada hewan coba. Keterangan kelayakan etik penelitian ini dikeluarkan oleh Unit Etika dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

2.8.3 Persiapan hewan coba

- Hewan coba dilakukan aklimatisasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan untuk proses adaptasi dengan tempat tinggal dan makanan. hewan coba kelinci *New Zealand White* adalah *Oryctolagus cuniculus* di Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.
- ...ci diberi makan standar dan minum setiap hari secara *adlibitum* kanya)



- c. Kelinci ditimbang sebelum dan sesudah proses adaptasi.
- d. Kelinci dikelompokkan secara acak menjadi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dengan Propolis dan kontrol negatif tanpa perlakuan.

Kelompok	Hari Ke 0	Hari ke-3	Hari ke-7	Hari ke-14
Tanpa Propolis (K)	K0 : 5 Kelinci	K1 : 5 kelinci	K2 : 5 kelinci	K3 : 5 kelinci
Dengan propolis (P)	P0 : 5 Kelinci	P1 : 5 kelinci	P2 : 5 kelinci	P3: 5 kelinci

- a. Kelompok K0 : Merupakan kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan apa pun pada hari ke 0 sebanyak 5 ekor.
- b. Kelompok K1 : Merupakan kelompok kontrol yang tidak di berikan propolis selama 3 hari sebanyak 5 ekor.
- c. Kelompok K2 : Merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi propolis selama 7 hari sebanyak 5 ekor.
- d. Kelompok K3 : Merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi propolis selama 14 hari sebanyak 5 ekor.
- e. Kelompok P0 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberikan propolis pada hari ke 0 sebanyak 5 ekor.
- f. Kelompok P1 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberi propolis selama 3 hari sebanyak 5 ekor.
- g. Kelompok P2 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberi propolis selama 7 hari sebanyak 5 ekor.
- h. Kelompok P3 : Merupakan kelompok perlakuan yang diberi propolis selama 14 hari sebanyak 5 ekor.

2.9. Cara Kerja Penelitian

2.9.1 Pemasangan Temporary Anchorage Device (TAD)

- a. Sebelum prosedur pemasangan TAD, dilakukan injeksi intramuskuler. Bahan anastesi yang digunakan berupa ketamin.
- b. Seluruh bagian TAD dibaluri Ekstrak Gel Propolis 10% *Trigona Sp*
- c. Inseri *Temporary Anchorage Device* secara manual dengan *screw driver* pada bagian bukal 1 cm di belakang gigi insisivus maksila arah inseri tegak lurus terhadap panjang sumbu gigi,





Gambar 2.2 Sudut Pemasangan TAD pada regio Posterior Mandibula (Yadav et al. 2024)

- d. Setelah Pemasangan TAD, untuk kelompok perlakuan area sekitar pemasangan dioleskan ekstrak gel propolis 10% *Trigona Sp* menggunakan *cotton bud* steril
- e. Pemberian Ekstrak Gel Propolis 10% *Trigona Sp*
Pemberian Ekstrak Gel Propolis 10% *Trigona Sp* pada hewan kelompok kontrol dapat dilakukan dengan cara pengolesan di area pemasangan TAD dua kali sehari, dengan menggunakan *cotton bud* steril.
- f. Dilakukan observasi selama periode waktu yang telah ditentukan
- g. Dilakukan swab menggunakan *cotton bud* steril
- h. Ekstraksi swab saliva

2.9.2 PCR saliva

- a. Preparasi Sampel
- b. Buat Suspensi (Bakteri Mac Farland 0,5 – 1) didalam tabung ependorf, sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 300 x g. buang supernatant dan tambahkan 200 ul PBS, tambahkan 20 ul Proteinase K mix.
- c. Cell Lysis
- d. Tambahkan 200 ul GSB Buffer *vortex*, inkubasi pada suhu 60 °C selama 20 menit dimana tiap 5 menit divortex.
- e. DNA Binding
- f. Tambahkan 200 ul Ethanol *vortex* selama 10 detik. masukkan kedalam GS Column dalam 2 ml collection Tube. Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 1 menit buang cairan pada collection tube.
- g. Wash
- h. Tambahkan 400 ul W1 Buffer, Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik. buang cairan pada collection tube, Tambahkan 600 ul Wash Buffer Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik. Ganti collection tube dengan ntrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 3 menit



- i. Elution
- j. Pindahkan GS Column ke tabung ependorf steril, tambahkan 100 ul Elution Buffer yang sebelumnya telah dipanaskan. Sentrifuge dengan kecepatan 14.000–16.000 rpm selama 30 detik
- k. Buang GS Column. Cairan yang terdapat pada tabung ependorf merupakan DNA produk yang siap untuk di PCR

Mix PCR

Go Taq Master Mix	: 25,0 ul
Primer Forward 63f 10 UM	: 1,0 ul
Primer Reverse 1387r 10 UM	: 1,0 ul
Nuclesa Free Water	: 13,0 ul
DNA Sampel	: 10,0 ul
Total	: 50 ul

l. Running PCR

Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 94 °C selama 2 Menit (Pre-Denaturasi)

Cycle 2 sebanyak x 30 Siklus

Step 1 Suhu 94 °C selama 30 detik(Proses Denaturasi)

Step 2 Suhu 55 °C selama 30 detik(Proses Aneling)

Step 3 Suhu 72 °C selama 90 detik (Proses extension)

Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72 °C selama 20 menit (Final extension)

m. Gel Elektroforesis

n. Pembuatan Gel. Pembuatan DNA marker. Persiapa Running Elektroforesis. Running Elektroforesis. Prosedur Kerja Gel Doc. Mengatur posisi Gel. Mengatur Image. Save dan Print Gambar.

o. Sukuensing dan Analisis Sekuen DNA

Sekuensing dilakukan dengan piranti Automated DNA Sequencer ABI PRISM 377 (Perkin Elmer Biosystem, USA). Cycle sequencing DNA template dilakukan menggunakan kit BigDye® Ready Reaction Mix (Perkin Elmer Biosystem, USA).

p. Campuran cycle sequencing

Terdiri atas 1 µl (300-500 ng) DNA template, 3,2 pmol primer, 1 µl DMSO, 6 µl BigDye® *Ready Reaction Mix*, dan *nuclease free water* untuk menggenapkan volume menjadi 20 µl.

q. Cycle Squencing

Proses cycle sequencing dilakukan pada mesin sequencer dengan kondisi sebagai berikut: pre-PCR pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing atau pelekatan primer (50°C, 30 detik) elongasi gan primer (72 °C, 2 menit), dan post-PCR (72°C, 7 menit) dengan sebanyak 25 kali.



R. Hasil *cycle sequencing*

Hasil *cycle sequencing* tersebut selanjutnya dimurnikan dengan metode pengendapan etanol dan natrium asetat (Sambrook dan Russell 2001). Pada metode pemurnian ini campuran hasil *cycle sequencing* dimasukkan dalam tabung *Eppendorf* yang berisi 50 µl 95% (v/v) etanol dan 2 µl 3M natrium asetat pH 4.6 lalu divorteks. Setelah diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit, campuran disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 10000 rpm. Dengan hati-hati supernatan dibuang sampai habis menggunakan pipet mikro. Pelet yang tertinggal dicuci dua dengan 70% (v/v) etanol. Untuk menghilangkan sisa-sisa etanol, pelet divakum selama 10 menit. Pelet yang diperoleh selanjutnya dilarutkan dengan loading buffer dan siap diberikan pada gel sekuensing. Sekuen DNA yang diperoleh dibandingkan dengan sekuen data base European Bioinformatics.

2.10 Analisis Data

Analisis dengan menggunakan Statistical Package For Social Science (SPSS) versi 25. Dilakukan uji normalitas data dengan uji Shapiro wilk dikarenakan jumlah sampel dibawah 50. Apabila hasil terdistribusi normal yaitu $>0,05$ maka data dilanjutkan menggunakan T-test untuk mengetahui perbedaan Tingkat kolonisasi, selanjutnya untuk melihat pengaruh propolis dilakukan uji lanjut berupa regresi linear.



2.11 Alur Penelitian

