BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu penyakit gigi dan mulut yang masih sering dijumpai di masyarakat adalah maloklusi. Maloklusi merupakan suatu kelainan atau anomali yang menyebabkan gangguan fungsi dan sering terjadi ketika seorang anak mulai bertransisi ke gigi campuran. (Ghodasra et al., 2023). Sekitar 70% dari semua anak-anak dan remaja memiliki beberapa derajat maloklusi, dan 35-45% memiliki maloklusi yang lebih parah yang membutuhkan perawatan ortodontik (Göranson et al., 2023). Maloklusi merupakan kelainan gigi terbanyak ketiga di Indonesia setelah karies gigi dan penyakit periodontal.

Kontrol penjangkaran sangat penting untuk mencapai hasil yang optimal dalam perawatan ortodontik. Laporan kasus telah banyak mengeksplorasi berbagai metode untuk mencegah hilangnya penjangkaran, termasuk penggunaan perangkat *ekstraoral* dan *intraoral*. Salah satu penjangkaran yang digunakan untuk perawatan ortodontik adalah *miniscrew,* karena ukurannya yang kecil, kemudahan pemasangan dan pelepasan, dan pemuatan langsung pada saat penempatan. Namun, hal ini tidak lepas dari komplikasi yang dapat mempengaruhi, tidak hanya tingkat keberhasilan *miniscrew* tetapi juga kesehatan mulut pasien (Truong et al., 2022). Sejalan dengan hal tersebut, salah satu bakteri yang berperan penting pada tahap awal kolonisasi mikroorganisme di rongga mulut sebelum berkembang menjadi kondisi yang lebih patogen adalah Streptococcus mutans (Laosuwan et al., 2018). Streptococcus mutans merupakan bakteri fakultatif anaerob yang berperan penting dalam pembentukan plak dan karies gigi. Pada penggunaan miniscrew ortodonti, peningkatan retensi plak dapat memfasilitasi kolonisasi bakteri tersebut, yang berpotensi menyebabkan gingivitis maupun inflamasi di sekitar miniscrew. Oleh karena itu, penghambatan pertumbuhan Streptococcus mutans menjadi penting dalam mencegah komplikasi tersebut (Mombelli & Décaillet, 2011). Salah satu pencegahannya dengan pemberian antibiotik baik secara sistemik maupun lokal. Namun ada beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemberian antibiotik, diantaranya usia pasien, faktor lokal, alergi, fungsi ginjal dan hati. Bagaimanapun penggunaannya harus berdasarkan persyaratan yang ditetapkan dengan jelas.

Alternatif terbaru dalam pencegahan perimplantitis yaitu dengan melibatkan aplikasi lapisan antibakteri. Modifikasi komposisi pelapis dapat digunakan sebagai strategi baru untuk mencegah infeksi perimplantitis melalui pembuatan lapisan antibakteri. Sejumlah besar penelitian sebelumnya telah mengeksplorasi keberhasilan miniscrew dengan berbagai bahan, termasuk antibiotik logam spektrum luas seperti vancomycin. Namun, pendekatan ini telah dikaitkan dengan delaminasi lapisan dan potensi efek toksik pada jaringan di sekitarnya, yang selanjutnya dapat memperburuk risiko komplikasi dan infeksi. Pendekatan terbaru untuk mengatasi kolonisasi bakteri adalah dengan menggunakan pelapis antibakteri alami yang berasal dari limbah laut (Mursal et.al., 2022). Pendekatan ini tidak hanya menawarkan alternatif sumber HAp yang berkelanjutan tetapi juga memberikan kontribusi baru dalam pengembangan material ortodonti yang lebih ramah lingkungan dibandingkan penggunaan antibiotik, yang sering kali mengalami resistensi bakteri dan efek samping lainnya (Dewi et al., 2020).

Bulu babi (*Diadema setosum*) merupakan salah satu spesies biota air yang termasuk ke dalam *filum Echinodermata*, yang penyebarannya dapat dijumpai di hampir semua perairan (Saputra et al., 2023). Potensi bulu babi sebagai agen antibakteri terhadap berbagai mikroba patogen belum dimanfaatkan secara optimal, bahkan beberapa daerah di Indonesia menganggap bulu babi sebagai hama (Sidiqi et al., 2019). Pada penelitian terbaru baik dari biosintesis atau sumber biogenik, bulu babi telah memberikan keuntungan dalam mengurangi biaya produksi dan toksisitas, karena bahan yang ditemukan secara alami digunakan untuk menunjukkan konduktivitas tulang yang lebih baik dibandingkan dengan metode yang melibatkan sumber anorganik umum (Vázquez et al., 2020)

Oleh karena itu, dengan meningkatnya penggunaan miniscrew dalam perawatan ortodontik, risikonya terhadap infeksi bakteri juga semakin tinggi, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi alternatif yang lebih aman dan efektif dalam mengurangi pertumbuhan bakteri melalui hidroksiapatit yang berasal dari duri bulu babi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan permasalahan nya yaitu: Apakah terdapat pengaruh pelapisan hydroxyapatite dari duri bulu babi (Diadema setosum) terhadap pembentukan biofilm *Steptococcus mutans* pada permukaan *miniscrew* ortodonti?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pelapisan hidroksiapatit dari ekstrak duri bulu babi terhadap biofilm *Streptococcus mutans* yang terbentuk di atas permukaan *miniscrew*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Penelitian ini dapat memberikan wawasan baru tentang potensi bahan alami dalam aplikasi medis, khususnya dalam mencegah infeksi yang terkait dengan penggunaan *miniscrew* ortodontik. Hal ini juga dapat memperkaya literatur ilmiah mengenai penggunaan bahan alami dan biokompatibel dalam perawatan ortodontik.
2. Mengurangi risiko pembentukan biofilm *Streptococcus mutans* pada pasien ortodonti.
3. Mendorong penelitian lebih lanjut dalam bidang biomaterial berbasis sumber daya laut untuk aplikasi medis dan ortodonti.

1.5 Hipotesis

Hipotesis Nol (H_0): Pelapisan hidroksiapatit dari ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) tidak berpengaruh terhadap pembentukan biofilm *Streptococcus mutans* pada permukaan *miniscrew* ortodonti.

Hipotesis Alternatif (H_1): Pelapisan hidroksiapatit dari ekstrak duri bulu babi (*Diadema setosum*) berpengaruh signifikan terhadap penurunan pembentukan biofilm *Streptococcus mutans* pada permukaan *miniscrew* ortodonti.

BAB II
METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *eksperimental laboratoris.*

2.2 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah post-test only control group design.

2.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.3.1 Lokasi Penelitian

a. Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
b. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia

2.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian direncanakan pada bulan Februari 2025 – Februari 2026

2.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mikroorganisme oral yang dapat menyebabkan periodontitis. Dan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur populasi bakteri *Steptococcus mutans*. Menurut *Fereder*, rumus penentuan sampel pada uji eksperimental dengan 5 perlakuan adalah sebagai berikut:

$$\mathbf{(\mathit{t}-1)\ (\mathit{n}-1) \geq 15}$$

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.75$$

Keterangan:

- t = jumlah perlakuan
- n = jumlah sampel (Pengulangan)

Berdasarkan rumuss diatas, maka besar sampel yang digunakan adalah 4,75, Karena jumlah sampel harus berupa bilangan bulat, maka dibulatkan menjadi 5 sampel. Besar sampel yang digunakan sebagai acuan dilakukannya pengulangan pada penelitian ini adalah 5 kali pengulangan.

2.5 Variabel Penelitian

2.5.1 Variabel Bebas

Hidroksiapatit yang berasal dari duri bulu babi (*Diadema setosum*) dengan konsentrasi 0,4%, 0,6%, 0,8%.

2.5.2 Variabel Terikat

Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans.*

2.5.3 Variabel Kontrol

Waktu, media kultur, dan suhu.

2.6 Definisi Operasional

2.6.1 Duri bulu babi (Diadema setosum)

Dalam penelitian ini, duri bulu babi merujuk pada struktur tajam yang terdapat pada permukaan tubuh bulu babi yang berperan sebagai mekanisme pertahanan diri terhadap predator.

2.6.2 Ekstak Duri bulu babi (Diadema setosum)

Ekstrak duri bulu babi (Diadema setosum) adalah pelapis yang diperoleh dari duri bulu babi. Dengan konsentrasi 0,4%, 0,6%, 0,8%, dalam bentuk sediaan bubuk.

2.6.3 Zona Hambat

Diameter zona bening di sekitar cakram disk pada media agar yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak duri bulu babi (Diadema setosum) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans.*

2.6.4 Bakteri *S. mutans*

Streptococcus mutans adalah bakteri gram-positif yang memiliki kemampuan membentuk biofilm pada permukaan gigi dan alat ortodonti.

2.7 Kriteria Inklusi dan Ekslusi

2.7.1 Kriteria Inklusi

1. Duri bulu babi (Diadema setosum) yang telah didemineralisasi dan deasitilasi.
2. Bakteri S. mutans yang telah dibiakkan.

2.7.2 Kriteria Ekslusi

1. Bakteri Streptococcus mutans yang terkontaminasi.
2. Ekstrak duri bulu babi (Diadema setosum) yang telah terkontaminasi.

2.8 Alat dan Bahan

2.8.1 Alat

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
15. Erlenmeyer
16. Mikropipet
17. Jarum Ose
18. Kantong
19. Stomacher
20. Pipet
21. Tabung Reaksi
22. Sudip
23. Aluminium Foil,
24. Bunsen Api
25. Cawan Petri
26. Tips mikropipet Steril
27. Gelas Ukur.

2.8.2 Bahan

1. Duri bulu babi (Diadema setosum)
2. Bakteri Streptococcus mutans
3. NaOH
4. CH3COOH
5. Aquades
6. Hcl
7. Strach Nitrat Broth (SNB)
8. Nutrient Broth (NB)
9. Nutrient Agar (NA)
10. Muller Hilton Agar (MHA)

11. Asam asetat 0,1%
12. Chlorhexidine 0,2%
13. Larutan buffer fosfat (PBS 0,1%)
14. Etanol 70%
15. Hidroksiapatit dari ekstrak duri bulu babi

2.9 Prosedur Penelitian

2.9.1 Pembuatan Ekstrak bulu babi menjadi Hydoxiapatite

Pertama, sintesiskan CaO, cuci duri bulu babi dengan air suling sampai semua bahan organik lunak dihilangkan. Lalu keringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian ditimbang dan digiling hingga diperoleh bubuk halus. Terakhir, bubuk dimasukkan ke dalam oven pada suhu 800 °C selama 10 menit, dengan laju pemanasan 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.

2.9.2 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 40, 60, 80 mg bubuk hidroksiapatit, masukkan ke tabung steril. kemudian ekstrak duri bulu babi diencerkan menggunakan Asam asetat 0,1% dan ditambahkan PBS 0,1% hingga volume total 10 mL. Selanjutnya aduk hingga homogen antara kedua larutan dan variasi konsentrasi larutan telah diperoleh.

2.9.3 Persiapan kultur bakteri S.Mutans

Suspensi koloni uji Streptococcus mutans dibuat dengan menempatkan loop koloni medium Nutrient Agar padat ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl fisiologis. Kekeruhan suspensi koloni uji dinormalisasi ke standar McFarland 0,5 (Sekitar 1,5 x 108 CFU/ml).

2.9.4 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 memadat. Setelah agar memadat, buat 5 sumuran (lubang) per plat MHA menggunakan cork borer sterilisasi (diameter 6 mm), setiap jarak antar sumuran minimal 2 cm dari pusat dan tepi plat. Beri kode pada plat untuk identifikasi (misal: Ekstrak 0,4%, Kontrol +, dll.). Kemudian isi setiap sumuran dengan 50 µL sampel, yaitu: 0,4%; 0,6%; 0,8% ekstrak duri bulu babi; chlorhexidine (kontrol +); Asam Asetat 0,1% (kontrol -). Lakukan

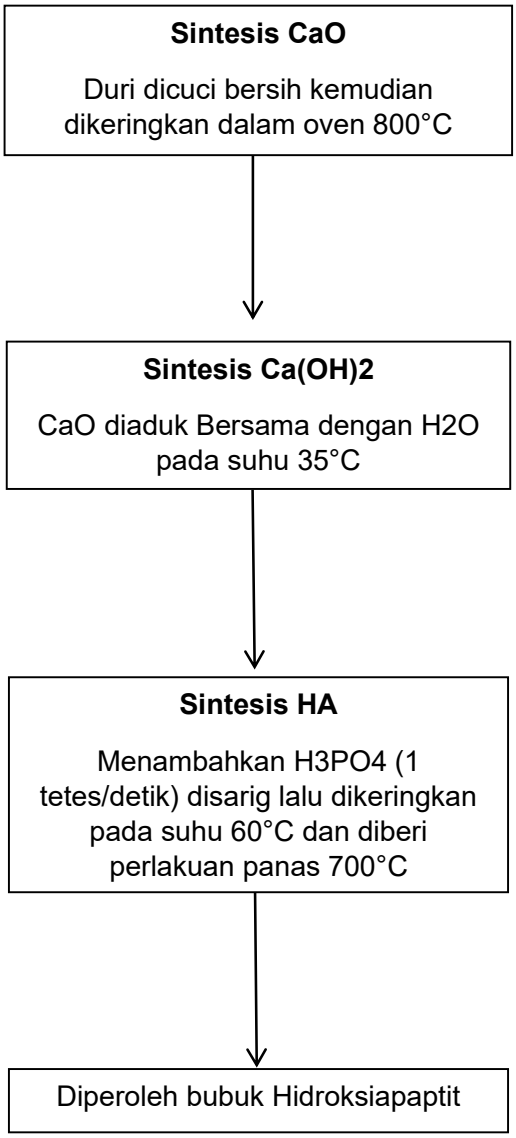
untuk 5 replikasi per perlakuan. Kemudian tutup plat dengan parafilm, balik plat, dan cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama ±24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona bening di sekitar sumur agar. Diameter zona hambat yang terbentuk karena adanya daya antibakteri dari hydroxyapatite, chlorhexidine, dan PBS 0,1% yang diukur dari sisi sebelah kiri sampai sisi sebelah kanan dengan menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran daya hambat ditabulasi.

2.10 Analisis Data

Data dianalisis dan diolah menggunakan Uji analisis varians (ANOVA) dengan SPSS versi 29.

2.11 Alur Penelitian

2.11.2 Pembuatan Ektrak Duri Bulu Babi menjadi Hydroxyapatite



2.11.2 Uji Antibakteri Metode Difusi Sumuran