

EFEK PELAPISAN OBAT (VANKOMISIN-KITOSAN-KOLAGEN) PADA PERMUKAAN ALOI KOBALT KROMIUM TERHADAP PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

SKRIPSI



Oleh:

**ZAHRANI WAHYUNINGTIAS
21/481324/KG/12502**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN
TEKNOLOGI REPUBLIK INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA**

2024

EFEK PELAPISAN OBAT (VANKOMISIN-KITOSAN-KOLAGEN) PADA PERMUKAAN ALOI KOBALT KROMIUM TERHADAP PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan guna
memperoleh derajat Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada



Oleh:

ZAHRANI WAHYUNINGTIAS
21/481324/KG/12502

KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN
TEKNOLOGI REPUBLIK INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA

2024



**UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PENDIDIKAN STRATA 1**

BERITA ACARA

**UJIAN SKRIPSI
Program Studi Kedokteran Gigi**

Tim Penguji Skripsi telah mengadakan Ujian Skripsi pada:

Hari, Tanggal : 11 Desember 2024
Pukul : 08.00-09.00 WIB

Bagi mahasiswa
Nama : Zahrani Wahyuningtias
Nomor Mahasiswa : 21/481324/KG/12502
Tanda Tangan : 

Judul Proposal Skripsi : Efek Pelapisan Obat (Vankomisin-Kitosan-Kolagen) pada Permukaan Aloi Kobalt Kromium Terhadap Penghambatan Pembentukan Biofilm Staphylococcus Aureus

Nilai :

Yogyakarta 11 Desember 2024

Penguji I
Ketua



drg. H. Dedy Kusuma Y., M.Biotech., Ph.D
NIP. 19780723 200812 1 001

Penguji II
Sekretaris



Dr. drg. Anne Handrini D., M.Kes
NIP. 1971207 200003 2 001

Penguji III
Anggota



dr. Dyah Listyarifah, M.Sc., D.Med.Sci
NIP. 198200718 200812 2 003

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi yang berjudul

EFEK PELAPISAN OBAT (VANKOMISIN-KITOSAN-KOLAGEN) PADA PERMUKAAN ALOI KOBALT KROMIUM TERHADAP PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Disusun oleh:

ZAHRANI WAHYUNINGTIAS

21/481324/KG/12502

Yogyakarta, 4 Desember 2024

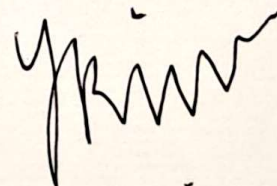
Menyetujui,

Pembimbing Utama



drg. H. Dedy Kusuma Y., M.Biotech., Ph.D
NIP. 19780723 200812 1 001

Pembimbing Pendamping



Dr. drg. Anne Handrini D., M.Kes
NIP. 1971207 200003 2 001

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

EFEK PELAPISAN OBAT (VANKOMISIN-KITOSAN-KOLAGEN) PADA PERMUKAAN ALOI KOBALT KROMIUM TERHADAP PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Disusun oleh:

ZAHRANI WAHYUNINGTIAS

21/481324/KG/12502

Yogyakarta, 23 Desember 2024

Mengetahui:

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS GADJAH MADA

Dekan



Prof. drg. Suryono, S. H., M.M., Ph.D

NIP. 196908161996011002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Teruntuk Mama dan Papa tercinta

Terima kasih atas segala doa, dukungan, dan kasih sayang yang luar biasa besar
serta tak terhingga

“Last but not least, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work. I wanna thank me for having no days off. I wanna thank me for never quitting, for always being a giver and trying to give more than I receive. I wanna thank me for trying to do more right than wrong. I wanna thank me for being me at all times”

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zahrani Wahyuningtias
NIM : 21/481324/KG/12502
Tahun Terdaftar : 2021
Program Studi : S1 Kedokteran Gigi
Fakultas/Sekolah : Fakultas Kedokteran Gigi

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Skripsi ini tidak terdapat bagian dari karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dalam dokumen ini dan disebutkan sumbernya secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan demikian saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah Skripsi ini di kemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 04 Desember 2024



Zahrani Wahyuningtias
21/481324/KG/12502

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pelapisan Obat (Vankomisin-Kitosan-Kolagen) pada Permukaan Aloi Kobalt Kromium Terhadap Penghambatan Pembentukan Biofilm Staphylococcus Aureus”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh derajat Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan, bimbingan, doa, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan penuh rasa hormat penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. dr. Ova Emilia, M. Med. Ed., Sp. OG(K), Ph.D. selaku Rektor Universitas Gadjah Mada karena telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti perkuliahan pada jenjang strata I di Universitas Gadjah Mada;
2. drg. Suryono, S.H., M.M., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada beserta jajarannya karena telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti perkuliahan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada dan telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
3. drg. Aryan Morita, M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Program Studi SI Pendidikan Dokter Gigi dan selaku Dosen Pembimbing Akademik atas bimbingan

akademis yang telah diberikan selama masa studi S1 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada dan memberikan banyak ilmu yang bermanfaat, bimbingan, dan masukkan kepada penulis;

4. drg. Ruslin, M.Kes, Ph.D. selaku Ketua Departemen Biomedika Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyusun skripsi di Departemen Biomedika;
5. Dr. drg. Archadian Nuryanti, M.Kes. selaku Koordinator Skripsi Departemen Biomedika Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada;
6. drg. Heribertus Dedy Kusuma Y., M.Biotech., Ph.D. selaku dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan masukan, saran, bimbingan, dan arahan dalam penyusunan skripsi ini;
7. Dr. drg. Anne Handrini D., M.Kes. selaku dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan masukan, saran, bimbingan, dan arahan dalam penyusunan skripsi ini;
8. dr. Dyah Listyarifah, M.Sc., D.Med.Sci. selaku dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji, memberikan masukan, saran, bimbingan, dan arahan dalam penyusunan skripsi ini;
9. Seluruh dosen di Departemen Biomedika, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan saran sehingga mempermudah proses penelitian dan penyusunan skripsi;

10. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Subandrio dan Ibu Mursyidah yang selalu memberikan doa, kasih sayang yang luar biasa besar, dukungan, serta motivasi yang tak terhingga kepada penulis;
11. Mbak Nisa, Mbak Bunga, Mas Ari, Mba Puteri dan segenap pimpinan dan staf Laboratorium Riset Terpadu FKG UGM atas bantuan dan bimbingan selama penulis melaksanakan penelitian;
12. *Partner* dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi yang selalu berjuang bersama, Annisa Zahro dan Berliana. Terima kasih atas kerjasama, bantuan, dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis;
13. Teman-teman skripsi Departemen Biomedika yang telah saling mendukung dan berbagi informasi dalam penyelesaian skripsi;
14. Barokah Gengs, Ica, Gladys, Salma, Hesti, Rindi, Sofi, Syifa, Atun, dan Riri atas semangat, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan sejak awal perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
15. Aulia, Novita, Ifa, Ofa, Fia, Amel, Ada, Nana, Ajeng, Salsa, Syifa, dan Icha selaku teman dekat penulis yang senantiasa mendengarkan segala keluhan, berbagi keceriaan, membantu, serta memberikan semangat kepada penulis;
16. Rekan-rekan Asisten Mikrobiologi FKG UGM serta seluruh teman-teman Occlusal Angkatan 2021 FKG UGM yang telah kebersamai dan berjuang bersama penulis selama masa studi;

17. Semua pihak yang turut membantu dan mendukung dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat dituliskan satu-persatu.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan serta ketidaksempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi banyak pihak dan dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya serta bermanfaat dalam pengembangan ilmu bagi penulis pribadi dan masyarakat luas.

Yogyakarta, 4 Desember 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSYARATAN.....	ii
BERITA ACARA	iii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
INTISARI.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Keaslian Penelitian	6
D. Tujuan Penelitian	9
E. Manfaat Penelitian	10
II. TINJAUAN PUSTAKA	11
A. Telaah Pustaka.....	11

1. Staphylococcus aureus	11
2. Biofilm	18
3. Aloi Kobalt Kromium	25
4. Infeksi Pascaimplantasi.....	31
5. Vankomisin	32
6. Kolagen	34
7. Kitosan	37
8. Coating	42
B. Landasan Teori	43
C. Kerangka Teori	46
D. Kerangka Konsep.....	46
E. Hipotesis.....	47
III. METODE PENELITIAN	48
A. Jenis Penelitian.....	48
B. Identifikasi Variabel.....	48
1. Variabel Pengaruh	48
2. Variabel Terpengaruh.....	48
3. Variabel Terkendali	48
4. Variabel Tak Terkendali.....	49
C. Definisi Operasional	49
D. Subjek Penelitian	50
1. Penentuan Jumlah Sampel	50
E. Bahan Dan Alat Penelitian	51
1. Alat Penelitian	51
2. Bahan Penelitian	53

F. Jalannya Penelitian	54
1. Ethical Clearance	54
2. Persiapan sampel penelitian	55
3. Sterilisasi Alat	55
4. Persiapan larutan vankomisin	55
5. Formulasi larutan kitosan dan kolagen	56
6. Pelapisan permukaan dengan silane	56
7. Pelapisan permukaan Spesimen Aloi CoCr.....	56
8. Sterilisasi spesimen	58
9. Pembuatan media kaldu BHI (<i>Brain Heart Infusion</i>)	58
10. Pembuatan suspensi bakteri	58
11. Penyetaraan McFarland	59
12. Uji penghambatan pembentukan biofilm	59
13. Pembacaan Hasil.....	59
G. Analisis Hasil Penelitian.....	60
H. Alur Penelitian	61
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	62
A. Hasil Penelitian	61
B. Pembahasan	67
V. KESIMPULAN DAN SARAN	72
A. Kesimpulan.....	72
B. Saran	72
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN.....	84

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tabel 1. Faktor virulensi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2. Klasifikasi <i>casting alloy</i> untuk protesa gigi.....	27
3. Spesifikasi ANSI/ADA No. 5, sifat mekanis <i>dental casting alloys</i>	28
4. Komposisi CoCr	29
5. Sifat mekanis aloi CoCr	30
6. Hasil pengukuran densitas optik biofilm <i>S. aureus</i> pada permukaan sampel aloi kobalt kromium setelah pelapisan matriks	63
7. Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> nilai Densitas Optik kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif.....	64
8. Hasil uji homogenitas <i>Levene's Test</i> nilai Densitas Optik kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif.....	64
9. Hasil uji <i>one-way ANOVA</i> nilai <i>Optical Density (OD)</i> pada kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif.....	65
10. Hasil uji <i>Post-Hoc</i> nilai densitas optik pada kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif.....	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tahap pembentukan biofilm	21
2. Struktur Vankomisin	33
3. Struktur Kitosan.....	38
4. Kerangka Teori	46
5. Kerangka konsep	46
6. Alur Penelitian.....	61
7. Rerata dan standar deviasi densitas optik biofilm <i>S. aureus</i>	63
8. Interaksi kimiawi kitosan-kolagen-vankomisin-kolagen.....	68
9. Mekanisme kerja vankomisin sebagai agen antibakteri.....	69
10. Mekanisme kerja sifat antibakteri kitosan	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Ijin Penelitian.....	84
2. Surat Keterangan Kelaikan Etik Penelitian (Ethical Clearance).....	86
3. Dokumentasi Penelitian	87
4. Data Hasil Penelitian.....	90
5. Hasil Analisis Statistik	91
6. Surat Bebas Tanggungan Administrasi Laboratorium	93

INTISARI

Penggunaan implan yang semakin meningkat, terutama implan berbahan aloi kobalt kromium memiliki kemungkinan terjadinya infeksi pacaimplantasi oleh adanya perlekatan biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek *coating* vankomisin–matriks kitosan–kolagen terhadap penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan aloi kobalt kromium. Dua belas permukaan spesimen aloi kobalt kromium dilapisi dengan vankomisin–kitosan–kolagen dengan metode *dip coating*, kemudian dilakukan pembedaan dalam suspensi bakteri *S. aureus* dan diinkubasi selama 40 jam. Pewarnaan dengan kristal violet 0,1% dilakukan selama 20 menit. Sampel dicuci menggunakan etanol dan larutan hasil pembilasan dipindahkan ke *microplate flate-bottom 96-well*. Pembacaan hasil densitas optik dengan *microplate reader* dengan panjang gelombang 540 nm. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antarkelompok. Hasil uji *Post-Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif dan kelompok perlakuan sedangkan antara kelompok perlakuan dengan kontrol positif tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian larutan vankomisin dengan matriks kitosan–kolagen dapat memberikan efek rendahnya densitas optik biofilm *S. aureus* pada permukaan spesimen aloi kobalt kromium.

Kata Kunci: *Pelapisan Permukaan, Biofilm, Staphylococcus aureus, Vankomisin, Aloi Kobalt Kromium, Densitas Optik*

ABSTRACT

The increasing use of implants, especially cobalt chromium alloy implants, has potential for post-implantation infections due to the presence of *Staphylococcus aureus* biofilm attachment. This study aims to determine the effect of vancomycin-chitosan-collagen matrix coating on inhibiting *Staphylococcus aureus* biofilm formation on the surface of cobalt chromium. Twelve cobalt chromium alloy specimen surfaces were coated with vancomycin–chitosan–collagen by dip-coating method, then immersed in *S. aureus* bacterial suspension and incubated for 40 hours. Staining with 0.1% crystal violet for 20 minutes. The samples were rinsed using ethanol and the rinsing solution was transferred to a 96-well flat-bottom microplate. Optical density results were read using a microplate reader with a wavelength of 540 nm. The results of One Way Anova test showed a significant difference ($p < 0.05$) between groups. The results of the Post-Hoc LSD test showed a significant difference ($p < 0.05$) between the negative control group and the positive control group and the treatment group, while there was no significant difference between the treatment group and the positive control ($p > 0.05$). The conclusion of this study is that the administration of vancomycin solution with a chitosan-collagen can provide a low optical density effect on *S. aureus* biofilms on the surface of cobalt chromium alloy specimens.

Keywords: *Coating, Biofilm, Staphylococcus aureus, Vancomycin, Cobalt Chromium Alloy, Optical Density*

I. PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Salah satu permasalahan kesehatan rongga mulut yang dialami masyarakat Indonesia adalah kehilangan gigi atau *missing tooth*. Menurut Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, kelompok usia 35-44 tahun memiliki signifikansi 1,7% pada kasus kehilangan gigi sedangkan pada kelompok berumur 65 tahun ke atas signifikansinya meningkat hingga 10,1% (Dwiyanti dan Octavia, 2019).

Implan gigi merupakan perawatan gigi yang penting pada pasien dengan riwayat kehilangan maupun kelainan perkembangan gigi. Implan gigi secara langsung bermanfaat untuk meningkatkan fungsi rongga mulut, termasuk fungsi fonasi dan estetika (Minkiewicz-Zochniak dkk., 2020). Material implan berkontak langsung dengan jaringan tubuh sehingga memerlukan pertimbangan dalam pemilihan material yang memiliki sifat biokompatibilitas (Rosanto dkk., 2016). Saat ini, penggunaan implan semakin meningkat. Aloi kobalt kromium (CoCr) merupakan salah satu material yang sering digunakan sebagai material implan gigi. Material CoCr tidak hanya digunakan dalam bidang kedokteran gigi, tetapi juga digunakan secara luas dalam material implan ortopedi serta kardiovaskular. Material ini memiliki keunggulan di antaranya memiliki kekuatan dan kekakuan yang baik, tahan terhadap korosi dan oksidasi, dapat digunakan dalam jangka panjang, serta ekonomis. Di samping kelebihanannya, material ini juga memiliki beberapa kekurangan. Pada beberapa pasien, material

CoCr dapat meningkatkan rasa sensitif, alergi, serta inflamasi di dalam rongga mulut. Dengan demikian, penggunaan material implan gigi berbahan aloi CoCr memerlukan perencanaan prosedur serta kolaborasi interdisipliner dalam rangka meminimalisasi ketidakakuratan serta kesalahan dalam perawatan. Hal ini juga dilakukan untuk mencegah risiko infeksi pascaimplantasi material aloi CoCr yang disebabkan oleh biofilm bakteri (Vaicelyte dkk., 2020; Juliano dkk., 2022).

Biofilm didefinisikan sebagai interaksi kompleks antara organisme uniseluler, yakni agregat bakteri yang melekat pada suatu permukaan matriks ekstraseluler. Matriks tersebut diproduksi oleh bakteri dan berfungsi sebagai pelindung biofilm dari lingkungan luar. Infeksi kronis akibat biofilm bakteri dapat terjadi ketika bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik. Akumulasi biofilm bakteri pada permukaan implan memperburuk risiko infeksi pascaimplantasi serta dapat mempengaruhi proses osseointegrasi. Akumulasi tersebut juga dapat menginduksi terjadinya inflamasi pada jaringan. Hal ini meningkatkan risiko terjadinya *denture stomatitis*, karies, serta infeksi penyakit periodontal (Minkiewicz-Zochniak dkk., 2020). Dengan adanya akumulasi biofilm tersebut turut meningkatkan risiko korosi pada material implan yang disebabkan oleh lingkungan yang asam akibat hasil dari metabolisme bakteri (Zhou dkk., 2020).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang diketahui menjadi penyebab utama dari infeksi kronis yang ditimbulkan pada pasien dengan perawatan implan gigi, terutama pada material CoCr. *S. aureus* beradhesi pada permukaan abiotik serta biotik melalui proses kohesi sel, interaksi antarsel,

maupun protein dinding sel. *S. aureus* juga menjadi penyebab dari beberapa penyakit, di antaranya infeksi jaringan lunak, infeksi pada aliran darah, bahkan endokarditis (Minkiewicz-Zochniak dkk., 2020; Hu, dkk. 2023; Oliveira dkk., 2023).

Sejak kemunculan MRSA atau *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, penggunaan antibiotik vankomisin semakin luas dan tidak terkendali hingga menyebabkan timbulnya resistensi *S. aureus* terhadap vankomisin. Vankomisin merupakan antibiotik yang telah digunakan sejak lama. Antibiotik ini merupakan antibiotik jenis glikopeptida dan diyakini memiliki signifikansi sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif. Contohnya adalah pada bakteri jenis kokus, *Neisseria*, *Clostridia*, dan *diphteroid*. Ukuran dan berat molekul glikopeptida yang besar mengakibatkan antibiotik ini tidak dapat menembus membran luar pada bakteri gram negatif. Vankomisin bekerja dengan cara mencegah reaksi transglikosilasi dan transpeptidasi saat terjadi pembentukan peptidoglikan. Penghambatan dinding sel bakteri akibat adanya glikopeptida membuat sitoplasma bakteri lebih rapuh sehingga menyebabkan terjadinya aktivitas bakterisida (Stogios dan Savchenko, 2019; Selim, 2022; Hu dkk., 2024).

Penggunaan antibiotik berkepanjangan pada kenyataannya tidak selalu menunjukkan hilangnya infeksi bakteri secara sempurna. Penggunaan obat dengan dosis tinggi dapat mengakibatkan terjadinya resistensi bakteri terhadap obat (Salar-Vidal dkk., 2023). Penyalahgunaan antibiotik pun turut berperan dalam meningkatkan risiko resistensi bakteri. Mekanisme resistensi bakteri

terhadap antibiotik di antaranya adalah mengganti protein target antibiotik, memproduksi enzim yang mendegradasi antibiotik, mengubah permeabilitas membran untuk mencegah penetrasi antibiotik, serta mengembangkan *membrane efflux pumps*. Adanya *membrane efflux pumps* menyebabkan antibiotik dapat dikeluarkan dari sel bakteri (Si dkk., 2021). Untuk mengatasi hal tersebut, penelitian mengenai modifikasi obat antimikroba maupun material antimikroba telah banyak dilakukan. Permukaan biomaterial, termasuk di dalamnya material CoCr, memainkan peran yang besar dalam proses infeksi bakteri hingga terbentuknya biofilm. Semakin kasar permukaannya, adhesi dan akumulasi bakteri akan semakin tinggi (Alqarni dkk., 2023). Pelekatan bakteri juga erat berkaitan dengan sifat porositas, hidrofobisitas, komposisi, dan bentuk dari material (Minkiewicz-Zochniak dkk., 2020). Berdasarkan hal tersebut, modifikasi permukaan biomaterial dengan bahan pelapis permukaan dapat menjadi salah satu cara untuk mengontrol pelekatan patogen pada permukaan biomaterial serta menghambat pembentukan biofilm (Li dkk, 2021).

Kitosan merupakan polisakarida alami yang bersifat ramah lingkungan, tidak toksik, dan mudah untuk dimodifikasi. Sifat biokompabilitas dan biodegradabilitas yang dimiliki kitosan membuatnya sering digunakan dalam berbagai penelitian (El-Araby, 2023). Kitosan adalah derivat dari kitin, yakni komponen utama dari banyak material alamiah. Senyawa ini merupakan polisakarida kation yang dapat mengganggu membran sitoplasma. Hal tersebut memicu terjadinya kebocoran pada matriks sitoplasma bakteri sehingga menjadi penyebab kematian bakteri. Toksisitas kitosan tergolong tinggi pada bakteri

karena senyawa ini memiliki gugus hidrofobik yang bermuatan kation. Gugus tepi hidrofobik membatasi fungsinya sebagai agen antimikroba karena terdapat penurunan kelarutan di dalam air. Struktur kimia kitosan cenderung beragregasi melalui pembentukan ikatan hidrogen dan nanopartikelnya akan teragregasi tanpa gugus hidrofobik dan berfungsi sebagai spons proton kationik yang dapat digunakan sebagai agen antimikroba yang efektif dengan biokompabilitas tinggi. Dengan kemampuan interupsi membrannya, kitosan menjadi kandidat yang baik untuk membuat bakteri yang telah resisten terhadap berbagai obat (*multiple drug resistant*) menjadi sensitif terhadap antibiotik (Si dkk., 2021).

Kitosan juga banyak dikembangkan dalam sistem penghantaran obat. Zat ini dapat meningkatkan spesifisitas, sensitivitas, biodistribusi, serta mereduksi sifat toksik secara farmakologi. Kitosan meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas, serta mengontrol pelepasan obat dengan sifat permeabilitasnya. Antibiotik yang diberikan pada permukaan material melepaskan substratnya lebih cepat karena tidak melewati sistem penghantaran obat. Dengan demikian, penambahan kitosan dapat menekan laju pelepasan antibiotik sehingga dapat berfungsi lebih efektif dan terkontrol. Kombinasi kolagen dan kitosan juga dapat meningkatkan sifat biokompatibilitas dari material yang dibawa oleh kitosan. Matriks kolagen akan terdegradasi secara bertahap sehingga pelepasan obat dapat terkontrol dengan baik (Ray dkk., 2013; Thongchai dkk., 2019; Anggani dkk., 2021; Jafernik dkk. 2023).

Berdasarkan uraian tersebut, pelapisan atau *coating* vankomisin-kitosan-kolagen berpotensi untuk dikembangkan dalam rangka meningkatkan efektivitas

sifat antimikroba serta menekan pembentukan biofilm bakteri *S. aureus* pada permukaan material implan, terutama pada material Co-Cr.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, muncul permasalahan sebagai berikut. Apakah coating vankomisin-kitosan-kolagen dapat menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan aloi kobalt kromium?

C. KEASLIAN PENELITIAN

Penelitian Wu dkk. (2020) menganalisis aktivitas peptida antimikroba P-113 dan turunannya yang dikombinasikan dengan antibiotik vankomisin. Kombinasi tersebut diuji efeknya dalam meningkatkan efektivitas antibiotik vankomisin terhadap bakteri *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam menganalisis aktivitas bakterisid berupa metode mikrodilusi dan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*). Perbedaan dengan penelitian ini adalah metode serta bahan kombinasi. Dalam penelitian ini bahan yang digunakan sebagai kombinasi antibiotik vankomisin adalah matriks kolagen-kitosan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *coating* atau pelapisan permukaan dengan teknik *dipping layer by layer*.

Penelitian yang dilakukan oleh Gupta dkk. (2023) menganalisis tentang efektivitas propilaksis antibiotik vankomisin sediaan bubuk pada material implan spinal berbahan logam secara *in vivo*. Propilaksis antibiotik yang

dilakukan bertujuan untuk mengurangi risiko infeksi pascaimplantasi. Material yang diuji terdiri dari kobalt kromium, stainless steel, dan titanium. Material tersebut telah diinokulasikan dengan MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Perbedaan dengan penelitian ini adalah metode yang digunakan berupa *coating* dengan teknik *dipping layer by layer*. *Coating* yang akan dilakukan menggunakan kombinasi vankomisin dan matriks kitosan-kolagen.

Penelitian yang dilakukan oleh Li, dkk. (2019) dengan judul “Biological and Antibacterial Properties of The Micronanostructured Hydroxyapatite/Chitosan Coating on Titanium” menganalisis efek pelapisan permukaan logam titanium terhadap sifat biologi, morfologi permukaan, dan antibakteri spesimen. Pelapisan permukaan yang dilakukan menggunakan bahan *coating micronanostructured hydroxyapatite* atau kitosan melalui metode *dip coating*. Perbedaan dengan penelitian ini adalah bahan yang digunakan sebagai *coating agent* dalam penelitian ini berupa kombinasi vankomisin dan matriks kitosan-kolagen.

Penelitian Li dkk. (2023) menganalisis tentang efektivitas mikrogel vankomisin berbasis kitosan polianilin dalam pemberian oral sebagai pengobatan yang potensial untuk *Inflammatory Bowel Disease*. Penambahan kitosan berbasis polianilin tersebut bertujuan untuk memperpanjang masa kerja obat dengan pelepasan vankomisin yang terkontrol dalam tubuh. Analisis pelepasan obat terkontrol dilakukan dengan *lysozym triggered biodegradation* yang menggunakan beberapa jenis tingkat keasaman yang menyesuaikan *pH*

intestinal manusia dalam keadaan sehat maupun yang terstimulasi oleh cairan lambung. Efisiensi Vankomisin diukur menggunakan UV vis Spectroscopy 280 nm. Selain itu, penambahan kitosan polianilin turut berperan dalam menekan aktivitas antibakterial yang dianalisis menggunakan metode ELISA. Perbedaan dengan penelitian ini berupa metode, bahan, serta variabel penelitian. Dalam penelitian ini metode yang digunakan berupa *coating with dipping layer by layer technique* menggunakan kombinasi antibiotik vankomisin dan matriks kitosan-kolagen pada permukaan material aloi CoCr. Penelitian ini menguji efek pelapisan tersebut terhadap pertumbuhan biofilm bakteri *S. aureus* melalui *optical density* yang dianalisis menggunakan *microplate reader* 540 nm.

Penelitian yang dilakukan oleh Anggani dkk. (2021) menganalisis efek pelapisan permukaan kitosan pada *orthodontic mini-implant* terhadap pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian dilakukan secara *in vitro*. Sampel yang digunakan berupa spesimen dengan *coating* kitosan, kombinasi kitosan dan antibiotik azitromisin, antibiotik azitromisin, tanpa *coating*, serta kontrol negatif berupa spesimen tanpa perlakuan *coating* maupun inokulasi bakteri. *Optical density* yang diukur menggunakan metode ELISA digunakan dalam penelitian ini sebagai indikator pertumbuhan biofilm bakteri *P. gingivalis*. Perbedaan dengan penelitian ini adalah jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *S. aureus*. Antibiotik yang digunakan sebagai *coating agent* dalam penelitian ini merupakan kombinasi antibiotik vankomisin dengan matriks kolagen-kitosan yang akan diaplikasikan menggunakan metode *dipping layer by layer coating technique*. Untuk mengukur pertumbuhan biofilm

bakteri dalam penelitian ini, *optical density* akan dianalisis menggunakan *microplate reader* 540 nm.

Penelitian Thongchai dkk. (2019) menganalisis tentang efek penambahan kolagen pada komposit berbasis kitosan dalam sifat fisik dan mekanikanya sebagai material pada bidang kefarmasian. Kedua senyawa ini dihubungkan melalui TEOS (*Tetraethyl Orthosilicate*) sebagai *crosslinker*. Analisis dilakukan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) untuk melihat perubahan mikrostruktural dari hidrogel komposit. Perubahan mikrostruktural yang dianalisis yaitu struktur, suhu, morfologi, serta sifat permukaan. Selain metode serta material yang diuji, perbedaan penelitian tersebut dengan penelitian ini terdapat pada variabel yang diuji. Variabel yang diuji dalam penelitian ini berupa pembentukan biofilm bakteri *S. aureus* menggunakan indikator *optical density* yang dianalisis menggunakan *microplate reader*.

Sejauh yang peneliti ketahui, belum ada penelitian lain yang menguji tentang efek *coating* vankomisin-kitosan-kolagen. terhadap pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan aloi kobalt kromium. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan dan melihat potensi dari bahan pelapis permukaan berbahan vankomisin-kitosan-kolagen.

D. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek *coating* vankomisin-kitosan-kolagen terhadap penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus*

aureus pada permukaan aloi kobalt kromium melalui teknik pelepasan obat terkontrol.

E. MANFAAT PENELITIAN

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai efek pelapisan permukaan (*coating*) vankomisin-kitosan-kolagen terhadap penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan aloi kobalt kromium melalui teknik pelepasan obat terkontrol.
2. Menjadi sumber referensi penelitian di masa mendatang untuk pengembangan lebih lanjut terkait efek *coating* vankomisin-kitosan-kolagen terhadap penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan aloi kobalt kromium melalui teknik pelepasan obat terkontrol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. TELAAH PUSTAKA

1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif (Idrees dkk., 2021). “*Staphylo-*” menggambarkan susunan sel yang berkerumun seperti buah anggur. Kata “*coccus*” menunjukkan bahwa sel-selnya berbentuk bola, sedangkan “*aureus*” merupakan bahasa lain untuk warna emas yang menunjukkan warna koloni spesies ini (Tortora dkk., 2019). Bakteri ini merupakan bakteri komensal yang sering ditemukan pada permukaan kulit dan membran mukosa dalam tubuh. Meskipun demikian, mikroorganisme ini dapat bersifat patogen dan menginfeksi tubuh (Hernandez-Cuellar, dkk., 2022).

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki toleransi terhadap suhu tinggi hingga 60°C dalam kurun waktu satu setengah hingga satu jam (Tortora dkk., 2019). Walaupun dapat tumbuh pada rentang suhu 10°C hingga 46°C, bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C dengan *pH* 6-7. Spesies ini termasuk dalam jenis bakteri fakultatif anaerob yang dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen. Namun, pertumbuhannya akan jauh lebih lambat pada kondisi anaerob. Bakteri ini merupakan bakteri nonmotil, tidak menghasilkan spora, dan ukurannya berada dalam rentang 0,5-1,5 μm (Fayisa dan Tuli 2023; Talaro dkk., 2024).

a. Patogenesis

Menurut Fayisa dan Tuli (2023), patogenesis *Staphylococcus aureus* melibatkan proses kolonisasi bakteri, infeksi lokal, penyebaran sistemik, infeksi metastatik, dan toksisitas bakteri. Ketika *S. aureus* berinvansi ke dalam kulit, neutrofil dan makrofag akan bermigrasi ke zona terjadinya infeksi. *S. aureus* akan menghindari respon imun tersebut dengan berbagai cara, seperti memblokir kemotaksis leukosit, mengisolasi antibodi inang, dan bersembunyi melalui kapsul polisakarida maupun membentuk biofilm. Saat menginvasi sel inang, *S. aureus* akan menghasilkan serangkaian faktor virulensi yang dapat melindungi bakteri dari aktivitas bakterisida PMN dan sel-sel imun lainnya.

b. Faktor virulensi

Faktor virulensi merupakan ciri mikroorganisme secara genetik, biokimia, maupun struktural yang memungkinkan suatu mikroorganisme menghasilkan suatu penyakit (Fisher dkk., 2013). *Staphylococcus aureus* menghasilkan banyak faktor virulensi, antara lain hemolisin, leukosidin, enterotoksin, racun eksfoliatif, dan faktor modulasi imun. Hemolisin akan melisis sel darah merah. Bakteri ini dapat memproduksi α -toksin yang akan berikatan dengan reseptor pada permukaan sel inang dan membentuk transmembran heptamerik. Komponen tersebut memungkinkan terjadinya pertukaran ion monovalen sehingga terjadi ketidakseimbangan ion, fragmentasi DNA, dan apoptosis jaringan.

Selain melisis sel darah merah, α -toksin yang disekresikan bakteri ini akan memproduksi β -hemolisis dan merusak komponen lain seperti leukosit dan jaringan pada organ seperti ginjal, otot, serta tulang (Talaro dkk., 2013; Fayisa dan Tuli, 2023).

Eksositosin lainnya yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* adalah leukosidin. Leukosidin akan meursak membran sel neutrofil dan makrofag sehingga terjadi lisis. Toksin yang dihasilkan akan menurunkan pertahanan dari sel-sel fagosit. Leukosidin bikomponen akan membentuk struktur oktamerik subunit S dan F yang secara bergantian membentuk β -barrel-pore. Keduanya bertindak sebagai superantigen. *Panton-Valentine Leukocidine* merupakan protein yang akan membentuk β -barrel-pore dan menghancurkan leukosit. Komponen ini bekerja dengan berikatan dengan reseptor komplemen C5aR dan C5L2 pada permukaan neutrofil sehingga menyebabkan lesi nekrotik pada permukaan kulit maupun mukosa. Enterotoksin merupakan eksositosin yang bekerja pada sistem digesti manusia. Umumnya kasus kontaminasi enterotoksin ditemukan pada keracunan makanan sehingga menimbulkan gejala yang berlangsung sangat cepat seperti mual, muntah, sakit perut, kram, serta diare. Toksin terbaru yang dihasilkan oleh bakteri ini adalah superantigen TSST-1 yang menjadi penyebab 75% kasus *Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST)*. Eksositosin TSST-1 bekerja dengan merangsang pelepasan

interleukin-1 (IL-1) oleh monosit, interleukin-2 (IL-2), dan faktor nekrosis tumor. Eksositosin ini turut menginduksi ekspresi reseptor IL-2 dan proliferasi limfosit T. Racun eksfoliatif menyebabkan terjadinya *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yakni kulit melepuh yang ditandai dengan hilangnya lapisan kulit superfisial dan dehidrasi pada kulit (Talaro dkk., 2013; Fayisa dan Tuli, 2023).

Faktor virulensi yang umum diakibatkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Faktor virulensi *Staphylococcus aureus*

Nama	Enzim/Toksin	Efek
Koagulase	Enzim	Koagulasi plasma darah
Hialuronidase	Enzim	Menyerang jaringan ikat
Staphylokinase	Enzim	Mencegah pembekuan darah
Lipase	Enzim	Memudahkan bakteri untuk berkolonisasi di kulit
Penisilinase	Enzim	Menginaktivasi penisilin
Hemolisin (α , β , γ , δ)	Toksin	Melisiskan sel darah merah
Leukosidin	Toksin	Melisikan neutrofil dan makrofag
Enterotoksin	Toksin	Menginduksi rasa mual dan diare
Eksfoliatif toksin (A, B)	Toksin	Menyebabkan deskuamasi kulit

<i>Toxic shock</i>	Toksin	Menginduksi demam, muntah, ruam, dan kerusakan organ
--------------------	--------	--

Talaro dkk. (2013).

c. Identifikasi

Media selektif dan diferensial yang digunakan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme ini adalah MSA (*Mannitol Salt Agar*). Media ini mengandung pepton dan ekstrak daging sapi yang memasok nutrisi untuk pertumbuhan *S. aureus*. Natrium klorida yang terkandung dalam agar ini berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme lain selain bakteri *Staphylococcus*. *Staphylococcus* merupakan bakteri yang dapat memfermentasi manitol. Pada media MSA, koloni *S. aureus* ditunjukkan dengan adanya zona berwarna kuning-keemasan pada permukaan media (Fayisa dan Tuli 2023).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diidentifikasi melalui beberapa teknik, antara lain uji pewarnaan gram, uji katalase, dan uji koagulase. Pada teknik pewarnaan gram, *S. aureus* menghasilkan warna ungu yang menandakan hasil positif pewarnaan gram. Pada uji katalase, bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya gelembung-gelembung pada zona uji. Hal ini disebabkan oleh bakteri *S. aureus* yang mampu menghasilkan enzim katalase sehingga mampu mengubah

hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) (Fayisa dan Tuli, 2023).

Pada uji kogulase, tabung plasma yang dinokulasikan bakteri *S. aureus* akan menunjukkan hasil positif berupa adanya penggumpalan darah (Talaro dkk., 2012). Koagulase merupakan enzim bakteri yang mengoagulasi fibrinogen dalam darah sehingga terjadi penggumpalan darah. Dengan terkoagulasinya fibrinogen, bakteri terlindungi dari adanya fagositosis (Tortora dkk., 2013).

d. Manifestasi klinik

Bakteri *S. aureus* merupakan patogen yang dapat menimbulkan infeksi pada tubuh, terutama pada rongga mulut. Beberapa penyakit yang berkaitan dengan infeksi *S. aureus* diantaranya *oral mucositis*, periodontitis, peri-implantitis, infeksi endodontik, hingga karies gigi (Manisha., 2019). Infeksi yang ditimbulkan oleh *S. aureus* mayoritas bermula dari titik penetrasi tubuh, antara lain kulit dan saluran pernapasan. Respon yang ditimbulkan oleh jaringan *host* umumnya ditandai dengan adanya inflamasi, pembengkakan, abses, hingga nekrosis jaringan. Bakteriemia merupakan kondisi saat bakteri telah menyebar melalui aliran darah. Kondisi tersebut dapat menyebabkan timbulnya abses internal, lesi pada kulit, serta infeksi pada organ tubuh (Fisher dkk., 2013).

Manifestasi yang umum ditemukan pada infeksi *S. aureus* yang terlokalisasi pada kulit adalah abses kecil yang melibatkan folikel rambut (folikulitis) dan kelenjar keringat. Contoh yang paling sering ditemukan adalah hordeolum eksternal atau dikenal dengan sebutan bintitan, merupakan infeksi *S. aureus* pada folikel di sekitar bulu mata. Selain itu, infeksi dapat bermanifestasi sebagai abses subkutan yang disebut dengan furunkel dan karbunkel. Infeksi yang terlokalisasi pada kulit bagian superfisial dapat bermanifestasi menjadi infeksi yang lebih dalam. Contohnya adalah infeksi akut dan kronis pada sumsum tulang serta sendi. Perawatan yang diberikan berupa drainase abses serta pemberian antibiotik. Endokarditis akut umumnya terjadi akibat penyalahgunaan obat intravena. Pemberian obat melalui jarum suntik yang terkontaminasi *S. aureus* dapat menjadi perantara terjadinya infeksi (Fisher dkk., 2013).

e. Resistensi

Penggunaan antibiotik yang masif dan berkepanjangan menyebabkan terjadinya resistensi bakteri ini terhadap antibiotik penisilin G maupun β -laktamase, seperti methicillin dan oxacillin (Fisher dkk., 2013). Dengan adanya resistensi mikroba, individu yang terinfeksi tidak lagi responsif terhadap pengobatan. Selain itu, infeksi yang berkepanjangan meningkatkan risiko penyakit lainnya. Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi karena beberapa

mekanisme. Mekanisme tersebut diklasifikasikan berdasarkan ada atau tidaknya gen resistensi. Gen resistensi bertanggung jawab atas resistensi bakteri terhadap antibiotik. Contohnya gen *VanA* merupakan gen resistensi terhadap antibiotik vankomisin, gen *mecA* merupakan gen resistensi terhadap antibiotik methisilin, dan gen *tetM* merupakan gen resistensi terhadap antibiotik tetrasiklin (Kumar dkk., 2023).

Resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik β -laktamase menciptakan strain bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik *methicillin*, yang dikenal dengan *Methicillin-Resistant-Staphylococcus-aureus* (MRSA). MRSA dibedakan menjadi 2 kategori yakni, *hospital strain* MRSA dan *community strain* MRSA. (Fisher dkk., 2013). Vankomisin menjadi salah satu obat lini pertama dalam pengobatan infeksi MRSA. Strain VRSA (*Vancomycin-Resistant-Staphylococcus-aureus*) kini menjadi masalah baru dalam bidang medis. Kemunculan strain ini menjadikan vankomisin sebagai faktor risiko infeksi VRSA dan telah mematahkan status vankomisin sebagai terapi utama dalam perawatan MRSA serta bakteri gram positif lainnya. Dengan demikian, perlu dilakukan adanya kontrol penggunaan antibiotik guna mengendalikan dan menekan resistensi bakteri terhadap antibiotik (Cong dkk., 2020).

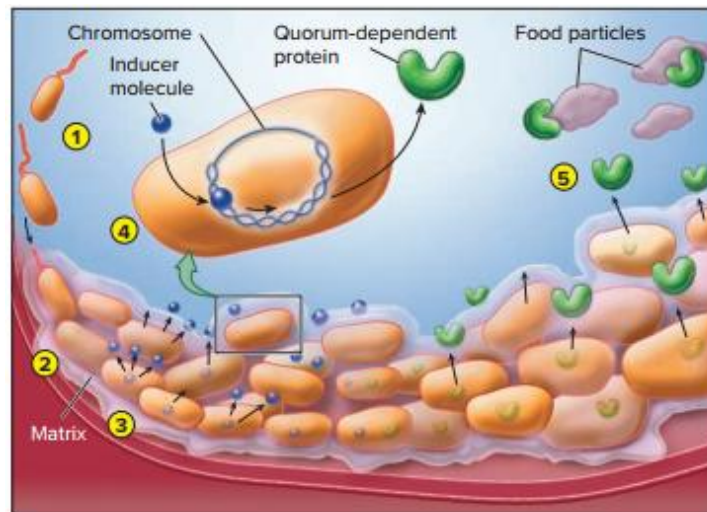
2. Biofilm

Istilah biofilm pertama kali diperkenalkan oleh Bill Costerton pada tahun 1978. Biofilm diartikan sebagai sebuah komunitas sesil yang berasal dari mikroba yang dicirikan dengan sel-sel yang melekat secara permanen pada suatu substrat atau permukaan, terlindungi oleh sebuah matriks ekstraseluler dan menunjukkan perubahan fenotip seiring dengan laju pertumbuhan dan transkripsi genetiknya (Thenappan dkk., 2023). Biofilm merupakan koloni mikroorganisme yang melekat pada suatu permukaan, baik benda mati (abiotik) maupun jaringan hidup (biotik). Biofilm dilindungi oleh matriks zat polimer ekstraseluler (EPS) yang berfungsi melindungi biofilm dari kondisi lingkungan inang (Rather dkk., 2021).

Salah satu perilaku biofilm adalah *quorum sensing*. Perilaku ini terjadi ketika sebuah spesies mengubah ekspresi gennya untuk bekerja sama dengan sel lain dalam satu biofilm yang sama. Contohnya adalah ketika satu spesies dapat mensintesis faktor pertumbuhan, spesies lainnya akan memberikan perlindungan dari antibiotik. Dengan perilaku ini, biofilm lebih terlihat seperti organisme tunggal dibandingkan dengan koloni spesies individu. Biofilm dapat menjadi bermanfaat bagi membran mukosa untuk melindunginya dari mikroba berbahaya. Namun, biofilm dapat menjadi berbahaya. Contohnya adalah dengan menghambat aliran air pipa dan akumulasinya pada bahan implan medis, seperti protesa dan kateter. (Tortora dkk., 2019).

a. Tahap pembentukan biofilm

Menurut Idrees dkk. (2021), tahap pembentukan biofilm terjadi dalam 4 stase. Pertama, proses penempelan sel planktonik ke permukaan abiotik maupun biotik. Kedua, kolonisasi dan pembentukan biofilm. Ketiga, pematangan biofilm. Keempat, penyebaran biofilm. Pembentukan biofilm dimulai ketika sel-sel planktonik yang mengambang bebas menempel dan berkolonisasi pada permukaan substrat. Perlekatan bakteri dipengaruhi oleh interaksi hidrofobik dan hidrofilik antara permukaan sel bakteri dengan permukaan substrat. Pada bakteri *S. aureus*, perlekatannya pada permukaan hidrofobik lebih lemah dibandingkan dengan perlekatan pada permukaan hidrofilik yang melibatkan sedikit makromolekul. Seiring dengan pembentukan koloni, EPS atau polimer ekstraseluler turut terbentuk. Ketika biofilm telah matang, sel-sel bakteri akan melepaskan suatu zat kimia, seperti asam amino dan enzim pendegradasi EPS (*alginate lyase*) untuk memecah biofilm. Setelah terpecah, sel-sel planktonik akan siap untuk kembali berkolonisasi di tempat yang sama maupun bermigrasi ke tempat lainnya.



Gambar 1. Tahap pembentukan biofilm (Talaro dkk., 2019)

b. Biofilm pada Rongga Mulut

Akumulasi biofilm pada rongga mulut dapat menjadi faktor predisposisi berbagai penyakit gigi dan mulut, seperti gingivitis, periodontitis, hingga infeksi pada jaringan. Rongga mulut merupakan habitat beberapa mikroorganisme, baik yang bersifat komensal maupun patogen (Meyer dkk., 2021). Kondisi lingkungan rongga mulut yang lembab dan penuh nutrisi bagi bakteri, mendukung pertumbuhan akumulasi mikroba. Kolonisasi mikroba merupakan interaksi dinamis yang kompleks antara inang, mikroorganisme, dan kondisi lingkungan rongga mulut (Rath dkk., 2021).

Biofilm menyukai daerah yang jarang terkena kekuatan mekanis yang abrasif seperti menyikat gigi. Contohnya daerah supragingiva, subgingiva, proksimal, interdental, dan fisura

pada gigi. Namun, penyikatan gigi tidak serta merta menghilangkan akumulasi biofilm secara sempurna dari jaringan keras gigi. Selain itu, aliran saliva yang menjadi agen proteksi alami rongga mulut terhadap mikroorganisme turut berperan dalam penghambatan pembentukan biofilm di rongga mulut. Saliva mengandung komponen organik dan anorganik. Komponen organik seperti protein dan enzim melalui sifat antimikrobanya dapat menghambat pertumbuhan biofilm sejak tahap awal pembentukan. Senyawa anorganik yang terkandung dalam saliva didominasi oleh ion fosfat dan bikarbonat. Kedua molekul ion ini berperan sebagai *buffer* atau penyangga asam yang merupakan produk metabolisme bakteri dalam mensintesis karbohidrat (Meyer dkk., 2021).

Menurut Fisher dkk. (2013), salah satu contoh komunitas biofilm yang terakumulasi pada permukaan gigi adalah plak gigi. Proses pembentukannya mencakup 3 tahap. Tahap pertama adalah terbentuknya pelikel pada permukaan. Seluruh permukaan di rongga mulut termasuk jaringan lunak maupun jaringan keras terlapisi oleh sebuah material organik yang dikenal dengan sebutan *acquired pellicle*. Pelikel pada permukaan gigi mengandung lebih dari 180 peptida, protein, dan glikoprotein seperti keratin, musin, fosfoprotein, *proline-rich protein*, *histidin-rich protein*, dan molekul lainnya yang

dapat memfasilitasi adhesi bakteri. Dengan demikian, bakteri tidak dapat berkontak dan berlekatan langsung dengan permukaan gigi. Tahap kedua adalah adhesi bakteri. Interaksi antara permukaan sel bakteri, yakni adhesin dengan reseptor pada pelikel saliva akan menentukan perlekatan bakteri terhadap substrat. Setelah adhesi yang baik tercapai, tahap selanjutnya adalah kolonisasi serta pematangan plak gigi. Pada awal kolonisasi, terjadi proses koadhesi. Koadhesi merupakan proses ketika bakteri utama akan menciptakan reseptor untuk dilekati oleh jenis bakteri lain. Proses ini menyebabkan mikrokoloni bertumbuh dan berkembang.

c. Biofilm pada permukaan dental implan

Pada kasus kegagalan restorasi, biofilm menghasilkan produk asam pada margin restorasi gigi sehingga menyebabkan terjadinya karies sekunder hingga infeksi pulpa. Biofilm yang telah persisten dalam sistem saluran akar dapat menjadi pemicu terjadinya periodontitis apikalis. Selain itu, biofilm yang melekat pada permukaan implan gigi dapat menyebabkan periimplantitis (Rath dkk., 2021). Beberapa faktor yang meningkatkan akumulasi biofilm pada permukaan dental implan yakni, kekasaran permukaan, energi bebas permukaan, luas permukaan, serta hidrofobisitas (Thenappan dkk., 2023). Pelikel saliva memiliki peran penting dalam interaksi bakteri

dan permukaan material. Sifat permukaan material, saliva, dan pelikel dapat mempengaruhi kekuatan adhesi bakteri dan interaksi fisikomekanokimiawi antara reseptor pelikel dengan komponen dinding sel bakteri, seperti adhesin (Sulistiani dkk., 2021).

d. Metode identifikasi biofilm

Secara umum, metode identifikasi biofilm dapat dikategorikan dalam dua jenis, yakni secara kuantitatif dan kualitatif. Metode kuantitatif terbagi atas teknik langsung (*direct*) dan teknik tidak langsung (*indirect*). Metode kuantitatif secara langsung memungkinkan adanya perhitungan jumlah sel bakteri yang telah dikultur. Salah satu contoh metode kuantitatif secara langsung, yakni *viable cell numbers by plate count*. Dalam metode ini, satuan yang digunakan adalah CFU/ml. CFU merupakan singkatan dari *colony forming unit* (Wilson dkk., 2017). Metode ini digunakan untuk memperkirakan jumlah mikroorganisme dengan asumsi bahwa mikroorganisme telah terdistribusi secara homogen. Selain itu, perhitungan melalui *optical density* (OD) dapat dilakukan untuk mengukur konsentrasi sel berdasarkan kepadatan optiknya (Wilson dkk., 2017; Soesetyaningsih dan Azizah, 2020).

Metode pengukuran kuantitatif secara tidak langsung adalah melihat pertumbuhan koloni melalui metode *dry mass*. Kepadatan biofilm diukur dalam massa per satuan luas. Biomassa pada substrat yang tercipta setelah proses pemanasan akan ditimbang dan dibandingkan selisih hasilnya dengan substrat tanpa biomassa (Wilson dkk., 2017).

Metode perhitungan bakteri secara kualitatif salah satunya dapat dilakukan dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Perbesaran yang dihasilkan dari mikroskop ini berkisar antara 10-500.000 kali dan menghasilkan citra dengan resolusi tinggi. Dengan perbesaran tersebut, metode ini menjadi metode yang sering digunakan untuk mengidentifikasi struktur dan topografi mikroskopis, salah satunya adalah biofilm (Wilson dkk., 2017).

3. Aloi Kobalt Kromium

a. Aloi

Aloi merupakan padatan kristal yang memiliki sifat-sifat metalik dan tersusun atas campuran dua atau lebih unsur logam maupun non logam. Semua elemen tersebut dapat saling larut dalam keadaan cair (Anusavice dkk., 2013).

American Dental Association (ADA) mengklasifikasikan aloi yang digunakan sebagai bahan *casting dental* berdasarkan komposisinya yang terdiri atas 3 kategori, yakni *high noble*

alloys, noble metal alloys, dan predominantly base metal alloys.

High noble alloys tersusun atas 40% emas (Au) dan 60% logam mulia. *Noble metal alloys* mengandung logam mulia utama minimal 25%. Beberapa elemen yang digunakan sebagai mulia utama dalam aloi ini antara lain paladium (Pd), emas, perak, tembaga, galium (Ga), indium (In), platina (Pt), dan timah (Sn).

Predominantly base metal alloys, yang mengandung kurang dari 25% berat logam mulia. Contohnya adalah aloi nikel-kromium (Ni-Cr), aloi kobalt-kromium (Co-Cr), aloi titanium-aluminium-vanadium (Ti-Al-V), dan aloi besi-karbon-kromium (Fe-C-Cr) (Anusavice dkk., 2013; Sakaguchi dan Powers, 2019).

Tabel 2. Klasifikasi *casting alloy* untuk protesa gigi

Tipe Aloi	<i>All-Metal Protheses</i>	<i>Metal-Ceramic Protheses</i>	Kerangka Gigi Tiruan Sebagian Lepas
High Noble (HN)	Au-Ag-Pd	Au-Pt-Pd	Au-Ag-Cu-Pd
	Au-Pd-Cu-Ag	Au-Pd-Ag (5-12% Ag)	
		Au-Pd-Ag (>12% Ag)	
		Au-Pd	
Noble (N)	Ag-Pd-Au-Cu	Pd-Au	
	Ag-Pd	Pd-Au-Ag	
		Pd-Ag	
		Pd-Cu-Ga	
		Pd-Ga-Ag	
Dominasi logam utama	Cp-Ti	Cp-Ti	Cp-Ti
	Ti-Al-V	Ti-Al-V	Ti-Al-V
	Ti-Al-Nb	Ti-Al-Nb	Ti-Al-Nb
	Ni-Cr-Mo-Be	Ni-Cr-Mo-Be	Ni-Cr-Mo-Be
	Ni-Cr-Mo	Ni-Cr-Mo	Ni-Cr-Mo
	Co-Cr-Mo	Co-Cr-Mo	Co-Cr-Mo
	Co-Cr-W	Co-Cr-W	Co-Cr-W
	Cu-Al		

(Anusavice dkk., 2013).

Menurut spesifikasi ANSI/ADA No. 5, aloi diklasifikasikan menjadi empat tipe berdasarkan sifat mekanisnya (Tabel 3).

Tabel 3. Spesifikasi ANSI/ADA No. 5, sifat mekanis *dental casting alloys*

Tipe Aloi	Jenis	Fungsi	Kekuatan Hasil (Yield Strength) (MPa)	Elongasi (%)
I	<i>Soft</i>	Restorasi yang mengalami tekanan rendah: beberapa jenis inlay	<140	18
II	<i>Medium</i>	Restorasi yang mengalami tekanan sedang: inlay dan onlay	140-200	18
III	<i>Hard</i>	Restorasi yang mengalami tekanan tinggi: mahkota, mahkota veneer yang tebal, gigi tiruan cekat jangka pendek	201-340	12
IV	<i>Extra-hard</i>	Restorasi yang mengalami tekanan sangat tinggi: mahkota veneer yang tipis, gigi tiruan cekat jangka panjang, gigi tiruan sebagian lepasan	>340	10

(Noort, 2013).

b. Aloi Kobalt-Kromium

Aloi Co-Cr merupakan aloi *cobalt-base* dengan campuran kromium yang populer dan sering digunakan sebagai material logam

dasar dalam aplikasi klinis di bidang kedokteran gigi. Aloi ini tersusun atas 60% kobalt, 25% kromium, dan beberapa jenis material metal lainnya, seperti Mo (molibdenum) dan W (tungsten) (Tabel 4). Menurut spesifikasi ANSI/ADA nomor 14, komposisi berat kromium tidak kurang dari 25% dan tidak lebih dari 28%-29%. Berat total kobalt kromium dan nikel tidak kurang dari 85%. Apabila kandungan kromium lebih dari 30%, proses *casting* aloi akan sulit dilakukan. Kobalt meningkatkan sifat mekanikal, seperti modulus elastik, kekuatan, kekerasan material. Kromium berfungsi untuk meningkatkan resistensi material terhadap korosi dan tarnish (Sakaguchi dan Powers, 2019; Timbo dkk., 2022; Uriciuc dkk., 2022).

Tabel 4. Komposisi CoCr

Jenis Aloi CoCr	Co%	Cr%	Mo%	Elongasi (%)	Suhu padat-cair (°C)	Suhu pengecoran (°C)
Biosil H (Degussa)	65.7	28.5	4.5	8	1320-1380	1500
Vitalium (Nobelparma)	60.6	31.5	6.0	3	1300-1370	1550
Wisil (Krupp)	65	28	5.0	7	1355-1375	1535

(Noort, 2013).

Pada awalnya, aloi kobalt kromium mengandung Mo (molibdenum) sebagai campuran untuk menciptakan sifat yang mudah mengalir. Namun, kini campuran itu telah tergantikan atau dikombinasikan dengan

W (*wolfram/tungsten*) yang meningkatkan sifat anti-korosi aloi Co-Cr (Uriciuc dkk., 2018).

Aloi kobalt kromium merupakan material yang lebih kuat dan keras dari *noble alloys* tetapi memiliki densitas dan *casting temperature* yang sama dengan aloi Ni-Cr (nikel kromium) (Sakaguchi dan Powers, 2019).

Tabel 5. Sifat mekanis aloi CoCr

Sifat	Aloi CoCr
Biokompabilitas	Sangat baik
Densitas	7.5 g/cm ³
Modulus Elastisitas (Kekakuan)	145-220 GPa
Ketahanan terhadap kekenduran	Sangat baik
Sensitivitas	Cukup tinggi
Ikatan terhadap porselain	Cukup
<i>Metal cost</i>	Rendah

(Anusavice dkk., 2013).

Dalam bidang kedokteran gigi, aloi kobalt kromium digunakan sebagai bahan pembuatan mahkota, jembatan, dan gigi tiruan sebagian (Hasan dan Mohammed, 2022). Material ini juga banyak digunakan dalam bidang medis, terutama ortopedik. Contohnya adalah sebagai pengganti cakram intervertebralis, artroplasti lutut atau pinggul, dan stent jantung (Vaicelyte dkk., 2020).

Material CoCr memiliki keunggulan diantaranya memiliki kekuatan dan kekakuan yang baik, tahan terhadap korosi, tarnish, dan oksidasi, modulus elastisitas yang tinggi, jarang menyebabkan iritasi dan

alergi, dapat digunakan dalam jangka panjang, serta lebih ekonomis (Grosogeat dkk., 2022). Namun, kekurangan material ini adalah mudah terjadi korosi pada lingkungan yang asam. Selain itu, dengan adanya kandungan berilium di dalamnya dapat mempengaruhi sifat biokompabilitas dari aloi CoCr (Kassapidou dkk., 2017).

4. Infeksi Pascaimplantasi

Infeksi pascaimplantasi merupakan infeksi yang terjadi setelah implantasi material. Infeksi ini dapat menjadi kontributor terjadinya penurunan viabilitas osteoblas, mengganggu interaksi antara osteoklas dan osteoblast, serta dapat memicu resorpsi tulang sehingga berdampak pada proses osseointegrasi (Li dkk., 2023). Risiko terjadinya infeksi pascaimplantasi diperburuk oleh hadirnya biofilm bakteri pada area di sekitar implan. Biofilm dapat menurunkan kinerja antibiotik karena terhambat oleh matriks biofilm. Sebagai kompartemen ekstra, biofilm bakteri dapat memperlambat perpindahan antibiotik secara difusi (Arciola dkk., 2015).

Adanya akumulasi biofilm turut meningkatkan risiko korosi pada material implan yang disebabkan oleh lingkungan yang asam akibat hasil dari metabolisme bakteri (Zhou dkk., 2020). Kondisi lingkungan rongga mulut yang terlalu asam meningkatkan proses pelepasan ion logam dan menimbulkan toksisitas. Toksisitas terjadi akibat ion logam yang secara langsung berpengaruh pada reaksi enzimatik dan infiltrasi membran. Aktivitas enzim dehidrogenase dan adenosin trifosfat (ATP) yang sangat

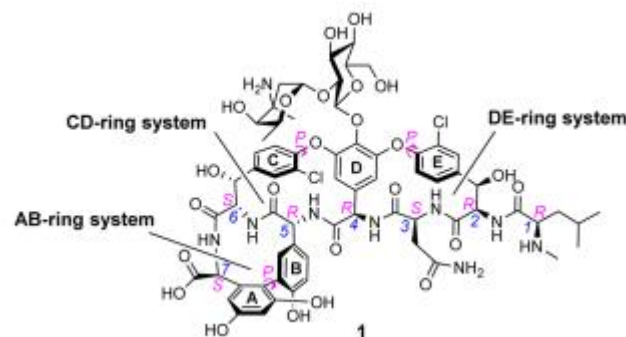
penting dalam metabolisme tubuh terhambat aktivitasnya akibat pelepasan ion logam. Ion logam dapat merusak bagian internal dan eksternal membran sel, perubahan *cristae* mitokondria, kehilangan material matriks, hingga kerusakan mitokondria. Efek toksisitas tersebut meningkatkan risiko terjadinya inflamasi pada jaringan sekitar implan (Alhasyimi dkk., 2015).

5. Vankomisin

Vankomisin merupakan antibiotik yang telah digunakan sejak lama. Awal penggunaannya yakni pada tahun 1950-an sebagai antibiotik untuk infeksi bakteri gram positif pada pasien yang memiliki alergi terhadap antibiotik β -laktam. Selain itu, pada awalnya, vankomisin juga digunakan sebagai antibiotik alternatif untuk mengatasi infeksi bakteri yang telah resisten pada antibiotik penisilin. Vankomisin bekerja dengan mengganggu regulasi pembentukan peptidoglikan ekstraseluler bakteri dengan menghambat ikatan silang pada molekul glikan. Namun, vankomisin dan grup antibiotik glikopeptida lainnya memiliki keterbatasan yakni memiliki sifat farmakokinetik yang buruk sehingga lebih sering dilakukan pemberian secara parenteral (Flint dan Davis, 2022).

Vankomisin relatif stabil terhadap atropisomerisme yang membutuhkan suhu di atas 140°C. Struktur kimianya berupa heptapeptida dan struktur trisiklik yang dihubungkan melalui rantai samping aromatik. Vankomisin termasuk ke dalam grup antibiotik glikopeptida yang bekerja dengan mengikat deptide C terminal D-Ala-D-Ala. Terminal C D-Alanil-

D-Alanil (D-Ala-D-Ala) merupakan peptida bioaktif yang berfungsi sebagai koordinator berbagai proses yang dikatalisis oleh enzim dalam biosintesis peptidoglikan dinding sel bakteri. Komponen D-Ala-D-Ala merupakan substrat yang secara alamiah terkandung dalam grup antibiotik glikopeptida, salah satunya adalah vankomisin. Vankomisin berikatan dengan N-Asil-D-Ala-D-Ala karboksilase. Vankomisin berikatan dengan substrat melalui kombinasi ikatan hidrofobik dan hidrogen. Ikatan hidrofobik ini dapat diidentifikasi melalui residu aromatik vankomisin dan gugus metil sampingan yang dibawa oleh D-Ala-D-Ala. Selain itu, vankomisin dan N-Asil-D-Ala-D-Ala juga menghasilkan komplementaritas lima ikatan H antarmolekul (Flint dan Davis, 2022).



Gambar 2. Struktur Vankomisin (Flint dan Davis, 2022)

Sifat antibiotik vankomisin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Dinding sel pada bakteri gram positif lebih rapuh dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Membran sitoplasma yang rapuh menyebabkan glikopeptida mudah untuk mengikat dan menghasilkan

aktivitas bakterisida. Struktur C terminal D-Ala-D-Ala yang terdapat pada vankomisin berfungsi sebagai reseptor yang mengoordinasikan berbagai proses yang dikatalisis oleh enzim pada biosintesis peptidoglikan dinding sel bakteri. Vankomisin akan mengganggu perakitan peptidoglikan dengan mengambat ikatan silang serta polimerisasi dari glikan. Ikatan silang dari glikan berfungsi untuk memperkuat struktur peptidoglikan terhadap tekanan osmotik yang berfluktuasi pada matriks dinding sel bakteri. Peningkatan tekanan osmotik dalam sel bakteri menyebabkan sel bakteri mengembang dengan cepat sehingga terjadi lisis atau pecahnya sel bakteri. Namun, vankomisin memiliki keterbatasan aktivitas dalam penghambatan pertumbuhan bakteri gram negatif. Ukuran serta berat molekul glikopeptida yang besar membuat antibiotik ini tidak dapat menembus membran luar dari bakteri gram negatif (Flint dan Davis, 2022; Selim dkk., 2022).

6. **Kolagen**

Kolagen merupakan protein alami yang terdapat dalam tubuh hewan. Dalam tubuh, 25%-35% protein total merupakan kolagen dalam bentuk fibril yang memanjang. Kolagen banyak terkandung dalam jaringan fibrosa, seperti tulang, tulang rawan, tendon, pembuluh darah, ligamen, kulit, kornea, diskus tulang belakang, dan usus. Kolagen menciptakan dukungan pada jaringan dan organ tubuh sehingga sifat fleksibilitasnya dapat meningkat (Sun dkk., 2023). Sumber kolagen yang banyak digunakan dalam aplikasi biomaterial adalah kolagen yang bersumber dari

manusia, hewan, serta biota laut organisme laut dapat menjadi opsi sumber kolagen karena bersifat ramah lingkungan (Wang, 2023).

Secara umum terdapat 5 jenis tipe kolagen predominan yang terkandung dalam organ maupun jaringan hidup. Kolagen tipe I merupakan kolagen yang banyak ditemukan dalam tubuh manusia. Kolagen ini berfungsi sebagai perancah organik dan mendukung proses perkembangan tulang melalui proses mineralisasi (Wang, 2023). Tipe kolagen ini memiliki sifat antigenitas yang rendah sehingga risiko terjadinya reaksi hipersensitivitas yang memicu alergi terhadap tipe ini lebih rendah (Zhang dkk., 2022).

Kolagen tipe II merupakan komponen utama pada matriks ekstraseluler tulang rawan. Kehilangan kolagen tipe ini akan menyebabkan percepatan hipertrofi kondrosit. Kolagen tipe III umumnya berikatan silang dengan kolagen tipe II. Kolagen tipe ini berfungsi sebagai fasilitator fibrillogenesis kolagen tipe I sehingga turut mengatur sifat biomekanik dari tulang rawan. Kolagen tipe IV merupakan penyusun kolagen utama pada membran basal. Kolagen tipe ini berfungsi sebagai pembatas antar jaringan. Kolagen tipe V merupakan kolagen yang berfungsi untuk memodulasi pembentukan dan mengontrol diameter fibril. Fungsi ini membuatnya sangat berperan dalam pembentukan komposisi matriks tulang, kornea, stroma, dan matriks otot interstitial (Wang, 2023).

a. Struktur Kolagen

Kolagen memiliki struktur *triple helix*, yang umumnya terdiri atas 2 rantai homolog (α -1) dan satu rantai tambahan yang komposisi kimiawinya sedikit berbeda (α -2). Rantai ini bersifat polipeptida dan dihubungkan oleh ikatan hidrogen antara gugus CO dan NH (Chak dkk., 2013). Susunannya yang berupa *triple helix* tersebut menyebabkan kolagen memiliki sifat mekanis yang stabil (Wang, 2023).

b. Manfaat Kolagen

Sifat biokompabilitas dan biodegradabilitasnya menjadikan kolagen cocok dalam pengaplikasiannya pada bidang medis, seperti *wound healing*, rekayasa jaringan, pelapisan permukaan material medis, dan suplementasi kulit. Selain itu, kolagen juga dapat mempengaruhi perilaku sel tumor dengan berinteraksi pada integrin, reseptor domain diskoid, dan reseptor tirosin kinase (Wang, 2023).

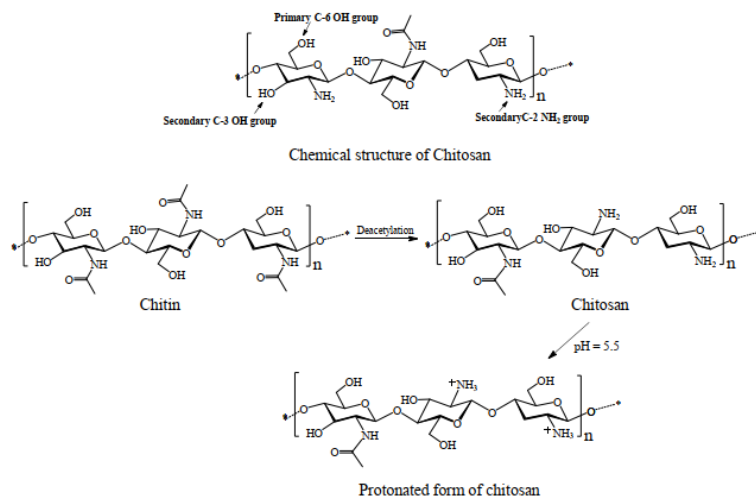
c. Kolagen dalam sistem penghantaran obat

Aplikasi kolagen dalam sistem penghantaran obat banyak diformulasikan dalam bentuk mikropartikel, bahan pelapis (*coating*), hidrogel, spons, pelet, dan film (An dkk., 2016). Kolagen cocok digunakan sebagai bahan pembawa obat karena bersifat non-toksik, unggul dalam biokompabilitas, dan berinteraksi baik dengan banyak bahan farmasi (Wang, 2023). Biopolimer ini dapat

mengontrol jumlah pelepasan obat sehingga tujuan pengobatan dalam konsentrasi terapeutik dapat tercapai dengan baik (Albu dkk., 2011). Matriks kolagen akan terdegradasi secara bertahap sehingga pelepasan obat dapat terkontrol dengan baik (Ray dkk., 2013). Obat yang akan digunakan dalam perawatan ditambahkan pada matriks kolagen melalui ikatan hidrogen, ikatan kovalen, atau disesuaikan dengan jenis obat (Khan dan Khan, 2013). Struktur *hierarchical* dan *triple helix* pada kolagen memodulasi serta mengubah panjang polipeptida obat. Perubahan tersebut berdampak pada waktu paruh molekul obat (Chen dkk., 2023).

7. Kitosan

Kitosan merupakan polisakarida linier yang tersusun atas gugus amino dan hidrosil reaktif yang dapat mengikat berbagai ion logam transisi. Kitosan terdiri atas monomer glukosamin dan N-asetilglukosamin. Keduanya terhubung melalui ikatan β -1,4-glikosidik (Gambar 3). Polimer ini merupakan derivat atau turunan dari kitin yang didapatkan melalui proses deasetilasi enzimatik maupun kimiawi. Kitin dapat disintesis pada cangkang krustasea, kutikula serangga, dan komponen dinding sel jamur serta alga. Kitosan mengandung tiga jenis gugus fungsi nukleofilik, yakni gugus C-2 NH_2 , gugus OH sekunder C-3, dan gugus OH primer C-6 (Sahariah dan Masson, 2017).



Gambar 3. Struktur Kitosan (Sahariah dan Masson, 2017)

a. Sifat Fisikokimia

Kitosan memiliki keunggulan dalam sifat biodegradabilitas, biokompabilitas, antibakteri, anti-tumor, antioksidan, serta hemostatiknya. Sifat-sifat ini dipengaruhi oleh struktur fisikokimianya, antara lain deasetilasi, kadar air, serta berat molekulnya. Deasetilasi kitosan merupakan proses penghilangan gugus asetil sehingga akan menentukan kandungan gugus amina bebas pada kitosan. Beberapa penelitian mengemukakan bahwa ketika proses deasetilisasi mencapai 85%, kitosan memiliki kelarutan yang baik. Proses penyerapan oleh kitosan berhubungan dengan interaksi antara muatan positif kitosan dengan membran sel bakteri, aktivasi transmembran klorin-bikarbonat, serta reorganisasi protein yang terkait dengan *epithelial tight junctions* (Zhang dkk., 2022)

b. Sifat Antibakteri

Kitosan memiliki sifat antibakteri yang baik dengan tingkat toksisitas yang rendah pada sel mamalia (Kou dkk., 2022). Senyawa ini merupakan polisakarida kationik yang dapat mengganggu membran sitoplasmik sehingga dapat terjadi kebocoran pada sitosol bakteri dan menjadi penyebab kematian bakteri. Toksisitas kitosan tergolong tinggi pada bakteri karena ia memiliki gugus hidrofobik dan muatan kationiknya. Di dalam air, gugus tepi hidrofobik membatasi fungsinya sebagai agen antimikroba karena adanya penurunan kelarutan. Meskipun demikian, struktur kimia kitosan cenderung beragregasi melalui pembentukan ikatan hidrogen dan nanopartikelnya akan teragregasi tanpa gugus hidrofobik berfungsi sebagai spons proton kationik yang dapat digunakan sebagai agen antimikroba yang efektif dengan biokompabilitas tinggi. Dengan kemampuan interupsi membrannya, kitosan menjadi kandidat yang baik untuk membuat bakteri yang telah resisten terhadap berbagai obat (*multiple drug resistant*) menjadi sensitif terhadap antibiotik (Siddik, 2021).

c. Sintesis Kitosan

Sebelum memasuki proses utama sintesis kitosan, dilakukan proses *pre-treatment*, dengan cara pencucian, perebusan, pengeringan, serta penggilingan untuk menghilangkan zat organik terlarut serta protein. Selain itu, proses ini juga dilakukan untuk memecah struktur kristal kitin. Secara garis besar, proses sintesis

kitosan dari cangkang krustasea terdiri atas 4 tahap, yakni proses penghilangan mineral atau demineralisasi, proses penghilangan protein (deproteinasi), penghilangan warna, dan proses deasetilasi. Proses demineralisasi dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan kalsium karbonat, yakni penyusun anorganik utama dari cangkang krustasea. Pada proses ini, digunakan asam klorida encer untuk menghilangkan mineral dan untuk menghindari hidrolisis kitin. Selanjutnya, dilakukan proses deproteinasi dan deasetilasi secara bersamaan dengan memberikan senyawa alkali yakni menggunakan natrium hidroksida (NaOH) atau kalium hidroksida (KOH). Selain itu, proses penghilangan warna juga dilakukan dengan menambahkan KMnO_4 dan asam oksalat atau menggunakan NaOCl (Imtihani dkk., 2020).

d. Pemanfaatan kitosan dalam bidang kesehatan

Dalam bidang kesehatan, kitosan merupakan suatu senyawa yang banyak dimanfaatkan keunggulannya. Kitosan dalam bentuk nanopartikel diketahui memiliki efek antitumor, termasuk didalamnya adalah karsinoma hepatoseluler, kanker lambung, kanker kolorektal, dan kanker paru-paru. Efek ini didukung oleh sifat kitosan yang merupakan antiproliferatif terhadap sel tumor. Dalam sebuah penelitian, kitosan diketahui dapat menginduksi apoptosis pada sel tumor dengan menurunkan Bcl-2 dan meningkatkan ekspresi *Caspase-3*. Dalam penghambatan metastasis

sel tumor, kitosan mereduksi ekspresi CD147 (*cluster of differetiation*) dan MMP-2 (*matrix metalloenzymes*) (Zhang dkk., 2022).

Selain itu, kitosan mampu meningkatkan proses penyembuhan jaringan dengan sifatnya yang dapat meningkatkan adhesi eritrosit, adsorpsi fibrinogen, mempercepat agregasi dan aktivasi trombosit, dan sifat hemostatik yang baik. Struktur morfologi kitosan nanofiber yang menyerupai matriks ekstraseluler kulit akan mendorong kecepatan penyembuhan luka pada jaringan. Dalam sebuah penelitian, kitosan diketahui dapat menstimulasi sekresi makrofag IL-4 dan TGF- β 1 sehingga meningkatkan deposisi kolagen, epitelisasi regeneratif, dan neovaskularisasi. Kitosan juga dapat dimanfaatkan dalam rekayasa jaringan tulang rawan karena strukturnya yang mirip dengan mukopolisakarida. Dalam matriks ekstraseluler, mukopolisakarida berfungsi dalam regulasi morfologi, fungsi, serta diferensiasi kondrosit (Zhang dkk., 2022).

Sebagai polisakarida kationik, kitosan memiliki banyak gugus amino dan hidroksil dalam rantai penyusunnya. Struktur ini yang membuat kitosan menjadi lebih sensitif terhadap *pH*. Dengan sifat tersebut, kitosan banyak dimanfaatkan dalam sistem penghantaran obat (Zhang dkk., 2022). Kitosan dapat meningkatkan spesifisitas, sensitivitas, biodistribusi, serta mereduksi sifat toksik farmakologikal dari obat. Kitosan meningkatkan stabilitas dan

bioavailabilitas, serta mengontrol pelepasan obat dengan sifat permeabilitasnya (Jafernik dkk. 2023).

8. Coating

Coating atau pelapisan permukaan merupakan proses pelapisan permukaan material yang bertujuan untuk memodifikasi permukaan material (Sukma dkk., 2016). Seiring dengan dilakukannya pelapisan permukaan, sifat fisik material akan meningkat (Li dkk., 2021). Dengan demikian, sifat hidrofobisitas permukaan, muatan permukaan, kekasaran, dan konfigurasi topografi material dapat dikontrol sehingga dapat menekan perlekatan bakteri terhadap material (Achinas dkk., 2019). Selain itu, pelapisan material juga bertujuan untuk meningkatkan biokompabilitas antara material sehingga tercipta kontak biomedis langsung yang baik pada jaringan tubuh (Amaravathy dkk., 2014). Bahan *coating* harus menggunakan bahan yang tidak beracun dan memiliki sifat biokompabilitas yang baik (Song dkk., 2020). Beberapa bahan yang dapat digunakan sebagai *coating agent* antara lain perak, tembaga, seng, klorheksidin, dan beberapa antibiotik yang dapat mencegah kolonisasi bakteri (Esteves dkk., 2022).

Teknik *coating* yang paling umum digunakan adalah teknik *dip coating* dan teknik *spray coating*. *Dip coating* merupakan teknik dengan membenamkan material pada bahan pelapis. Teknik ini dapat digunakan pada banyak substrat termasuk pada material dengan permukaan yang luas.

Teknik ini dinilai lebih efisien dalam membentuk lapisan yang seragam pada permukaan material. Namun, teknik *dip coating* memiliki kekurangan yakni perlekatan bahan pelapis pada permukaan material tergolong lemah. *Spray coating* merupakan teknik pelapisan permukaan material dengan menyemprotkan bahan pelapis (Wu dkk., 2016). Teknik ini dapat dilakukan pada suhu ruang, tidak membutuhkan biaya yang besar, serta proses fabrikasi yang tidak rumit (Santoso dkk., 2023).

Pelapisan permukaan atau *coating* dengan bahan antibiotik merupakan salah satu teknik dalam menekan pertumbuhan bakteri pada permukaan material. Terdapat tiga jenis pendekatan dalam pelapisan permukaan menggunakan antibiotik, yakni secara pasif, aktif, dan dengan bakteri. Pendekatan pasif berfokus pada bahan antibiotik yang akan digunakan sebagai agen pelapis tanpa adanya bahan pemicu pelepasan. Pendekatan aktif menggunakan bahan yang bersifat sebagai stimulasi-responsif atau pemicu untuk melepaskan agen antibakteri. Pendekatan ini meningkatkan jangka waktu dari antibiotik sehingga dapat bekerja secara efektif. Pendekatan yang dipicu oleh bakteri memungkinkan pelepasan agen antibiotik dengan pemicu berupa *pH* maupun enzim (Achinas dkk., 2019).

B. LANDASAN TEORI

Perlekatan bakteri *S. aureus* meningkatkan risiko timbulnya biofilm. Akumulasi biofilm pada rongga mulut dapat menjadi faktor

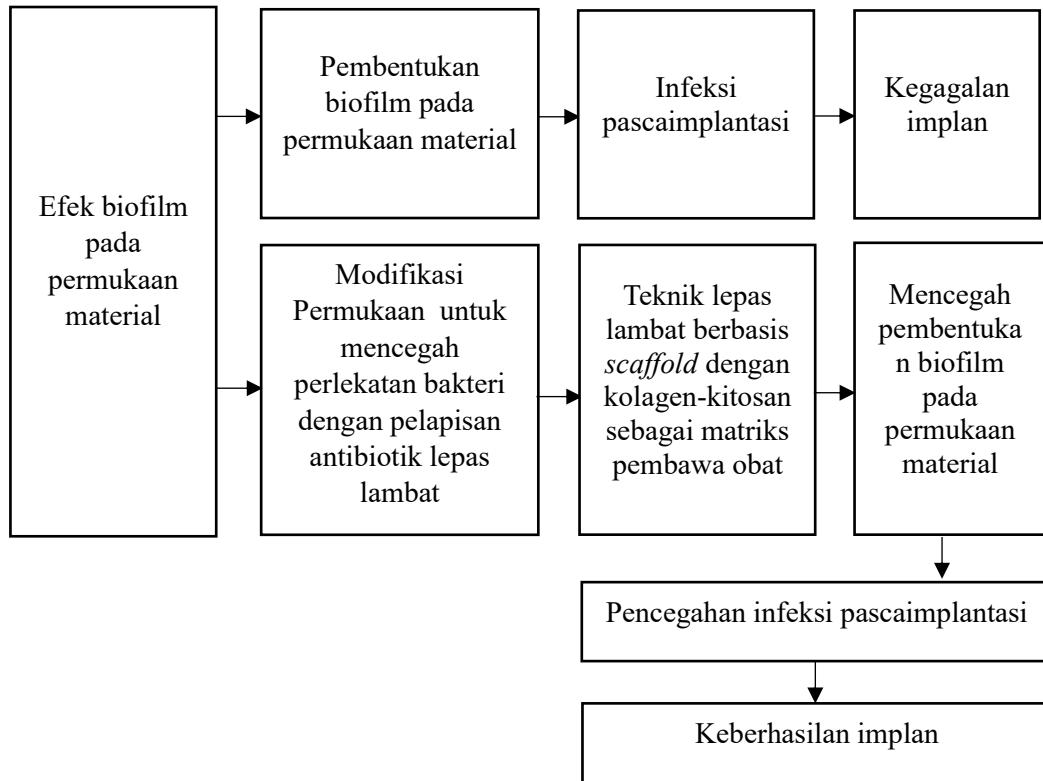
predisposisi berbagai penyakit gigi dan mulut, seperti gingivitis, periodontitis, hingga infeksi pada jaringan. Beberapa faktor yang meningkatkan akumulasi biofilm pada permukaan dental implan yakni, kekasaran permukaan, energi bebas permukaan, luas permukaan, serta hidrofobisitas. Aloi Co-Cr merupakan aloi *cobalt-base* dengan campuran kromium yang populer dan sering digunakan sebagai material logam dasar dalam aplikasi klinis di bidang kedokteran gigi. Penggunaan material ini tidak terlepas dari adanya perlekatan bakteri, baik pada rongga mulut maupun permukaan material. Salah satu bakteri yang sering ditemukan pada rongga mulut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

Vankomisin menjadi salah satu obat lini pertama dalam pengobatan infeksi MRSA. Strain VRSA (*Vancomycin-Resistant-Staphylococcus-aureus*) kini menjadi masalah baru dalam bidang medis. Kemunculan strain ini menjadikan vankomisin sebagai faktor risiko infeksi VRSA. Dengan demikian, diperlukan modifikasi bahan untuk meningkatkan efektivitas vankomisin dalam melawan bakteri *S. aureus*. Salah satunya adalah dengan menambahkan kitosan sebagai agen pengikat silang atau *crosslink agent*. Kitosan merupakan polisakarida kationik yang dapat mengganggu membran sitoplasmik sehingga dapat terjadi kebocoran pada sitosol bakteri dan menjadi penyebab kematian bakteri. Kitosan juga mampu meningkatkan proses penyembuhan jaringan dengan sifatnya yang dapat meningkatkan adhesi eritrosit, adsorpsi fibrinogen, mempercepat agregasi dan aktivasi trombosit, dan sifat hemostatik yang baik. Adapun

penambahan kolagen sebagai agen pembawa obat ditujukan agar *drug release* atau pelepasan obat lebih terkontrol.

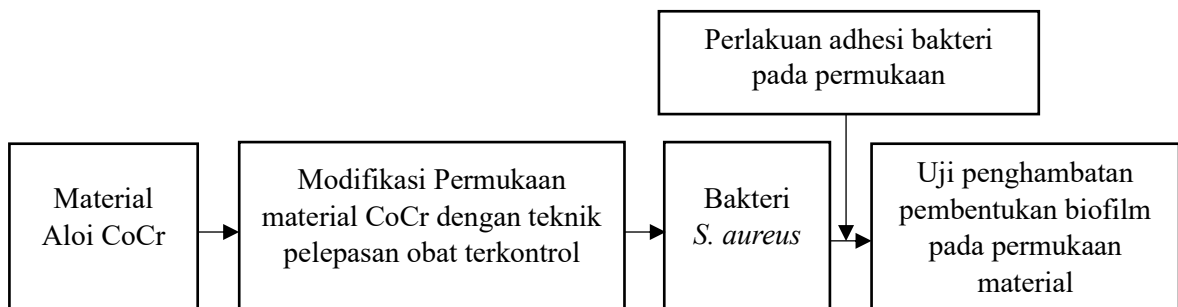
Penelitian mengenai modifikasi permukaan pada material guna mencegah perlekatan biofilm telah banyak dilakukan. Saat ini, teknik pelapisan permukaan merupakan salah satu teknik yang sering digunakan. Selain bertujuan untuk memodifikasi permukaan material, teknik *coating* pun dapat menjadi prasarana dalam meningkatkan sifat biokompabilitas material. Salah satu teknik yang digunakan adalah teknik *spray coating*. *Spray coating* merupakan teknik pelapisan permukaan material dengan menyemprotkan bahan pelapis. Teknik ini dapat dilakukan pada suhu ruang, tidak membutuhkan biaya yang besar, serta proses fabrikasi yang tidak rumit.

C. KERANGKA TEORI



Gambar 4. Kerangka Teori

D. KERANGKA KONSEP



Gambar 5. Kerangka konsep

E. HIPOTESIS

Berdasarkan landasan teori yang telah dipaparkan, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah *coating* vankomisin-kitosan-kolagen dapat menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* melalui teknik pelepasan obat terkontrol pada permukaan aloi kobalt kromium.

III. METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat kuasi eksperimental.

B. Identifikasi Variabel

1. Variabel Pengaruh

Pelapisan permukaan vankomisin dalam matriks kitosan kolagen

2. Variabel Terpengaruh

Densitas biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan CoCr

3. Variabel Terkendali

- a. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* strain 25923 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml)
- b. Temperatur dan waktu inkubasi bakteri: 37°C, 24 jam
- c. Lama perendaman sampel dalam biakan bakteri : 40 jam
- d. Media kultur bakteri : Media kaldu cair (*Brain Heart Infusion (BHI) broth*)
- e. Kolagen Tipe I (FITConjugate Bovine skin, C4361 USA)
- f. Kitosan (SigmaAldrich, China)

- g. Jumlah lapisan *coating* : 5 kelompok lapisan
- h. Sediaan cair Vankomisin dengan dosis 30 mikrogram/ml (Sigma Aldrich V8138-250 mg)
- i. Aloi COCR, dengan bentuk dan ukuran sampel: silindris dengan diameter 5 mm dan ketebalan 3 mm (Dentaurum, Jerman).

4. Variabel Tak Terkendali

- a. Topografi permukaan material
- b. Metabolisme bakteri

C. Definisi Operasional

1. Aloi kobalt kromium yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloi kobalt kromium berbentuk silindris dengan diameter 5 mm dan tebal 3 mm.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam penelitian ini merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan strain 25923 dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml yang didapatkan melalui LRT Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada
3. Antibiotik vankomisin dalam penelitian ini adalah sediaan cair antibiotik vankomisin dengan konsentrasi 30 $\mu\text{g/mL}$.
4. Kitosan dalam penelitian ini berupa sediaan bubuk yang dilarutkan dalam asam asetat.

5. Kolagen dalam penelitian ini berfungsi sebagai material pembawa. Sediaannya berupa sediaan cair yang diencerkan dengan air deionisasi.
6. Densitas optik biofilm, diukur sebagai intensitas reduksi melalui cahaya yang ditransmisikan oleh biofilm. Komponen ini akan menggambarkan kuantitas biofilm yang terbentuk. Pada penelitian ini, densitas optik biofilm diukur menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 540 nm.

D. Subjek Penelitian

Material aloi kobalt kromium berbentuk silindris dengan diameter 5 mm dan tebal 3 mm yang dilapisi dengan vankomisin dan matriks kitosan-kolagen kemudian direndam dalam biakkan bakteri *S. aureus*.

1. Penentuan Jumlah Sampel

Berdasarkan Daniel dan Cross (2013), jumlah subjek yang akan digunakan dalam penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n = jumlah sampel minimum tiap kelompok

z = nilai standar pada penyimpangan tertentu, dimana jika $\alpha = 0,05$,

maka $z = 1,96$

σ = standar deviasi

d = estimasi kesalahan yang dapat ditoleransi dengan asumsi $d = \sigma$

pada kesalahan yang masih dapat diterima, sehingga :

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{d^2}$$

$$n = z^2 n = 1,96^2 n = 3,8416 = 4$$

Berdasarkan perhitungan, jumlah sampel yang akan digunakan dalam setiap kelompok adalah 3,8416 atau dibulatkan menjadi 4 buah sampel. Dalam penelitian ini, terdapat tiga kelompok perlakuan. Dengan demikian, masing-masing perlakuan akan menguji 4 buah sampel sehingga total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 12 buah.

E. Bahan Dan Alat Penelitian

1. Alat Penelitian

1.1 Alat Utama

- a. *Microplate reader* (Thermoscientific)

1.2 Alat Penunjang

- a. Sarung tangan dan masker
- b. *Multiwell culture plate 6 well* (IWAKI)
- c. *Microplate 96 well flat bottom* (IWAKI)
- d. *Fumehood cabinet* (ThermoFisher Scientific)

- e. Tabung reaksi beserta rak
- f. *Magnetic stirrer* (SCIOLOGEX)
- g. Inkubator (Labtech)
- h. Bunsen
- i. Pemantik api
- j. Autoklaf (Tomy)
- k. Ose
- l. Gelas beker (IWAKI)
- m. Gelas ukur
- n. Duran (SCHOTT)
- o. Timbangan digital (Metler Toledo)
- p. Sendok pengaduk
- q. Mikropipet (Thermofisher)
- r. Mikrotip (Axygen, China)
- s. *Conical tube* 15 ml (Corning, Mexico)
- t. *Surface roughness tester* (Starret)
- u. *Ultrasonic cleanser* (Krisbow)
- v. Vortex (Corning)

w. *Micro-brush*

x. *Syringe*

y. Pinset

z. Cawan petri

2. Bahan Penelitian

2.1 Bahan Utama

- a. Spesimen aloi kobalt kromium diameter 5 mm ketebalan 3 mm (Dentaurum, Jerman).
- b. Biakan bakteri *S. aureus* strain 25923 dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml
- c. *Vancomycin hydrochloride* (Sigma Aldrich V8138-250MG)
- d. Kolagen tipe I (FITConjugated Bovine Skin, C4361 USA)
- e. Serbuk Kitosan (SigmaAldrich, China).

2.2 Bahan Penunjang

- a. Akuades steril (Jaya Santosa)
- b. Air deionisasi
- c. Alumunium foil
- d. Asam asetat 1,5% sebagai pelarut kitosan
- e. Serbuk Kaldu BHI (Brain Heart Infusion) (Milipore, USA)

- f. Klorheksidin dengan konsentrasi 0,1% (Minosep)
- g. Silane
- h. *Phosphate buffered saline* (PBS)
- i. Kristal violet 0,1% (Milipore, USA)
- j. Etanol 100% (SMARTLAB)
- k. Larutan McFarland
- l. Alkohol 70%
- m. Kertas tisu
- n. NaCl 0,9%
- o. Malam merah
- p. Parafilm

F. Jalannya Penelitian

1. Ethical Clearance

Surat kelayakan etik penelitian (*ethical clearance*) telah diajukan kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada sebelum melakukan penelitian mengenai “Efek Modifikasi Permukaan Aloi Kobalt Kromium dengan Teknik Pelepasan Obat Terkontrol (Vankomisin-Kitosan-Kolagen) terhadap Kemampuan Anti-biofilm *Staphylococcus*

aureus". Dokumen kelayakan etik telah diperoleh dengan nomor 155/UN1/KEP/FKG-RSGM/EC/2024.

2. Persiapan sampel penelitian

Sampel penelitian berupa spesimen aloi kobalt kromium dengan bentuk silinder berdiameter 5 mm yang dipotong hingga ketebalan 3 mm. Sampel selanjutnya dilakukan uji kekasaran permukaan menggunakan *surface roughness tester*. Homogenisasi sampel dilakukan dengan menyeleksi sampel yang masuk dalam rentang kekasaran yang telah ditentukan, yakni 0,27-0,30 μm . Selanjutnya, dilakukan sonikasi selama 10 menit yang bertujuan untuk menghilangkan debu dan kontaminasi pada spesimen. Permukaan sampel yang tidak digunakan dalam penelitian dilapisi menggunakan malam merah.

3. Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf dan alkohol. Pemilihan jenis sterilisasi disesuaikan dengan jenis alat. Sterilisasi bertujuan untuk meminimalisasi kontaminasi mikroba. Sterilisasi dengan autoklaf dilakukan selama 2 jam dalam suhu 121°C.

4. Persiapan larutan vankomisin

Sediaan antibiotik vankomisin dalam bentuk serbuk vankomisin sebanyak 0,0012 gram dilarutkan dalam air terdeionisasi sebanyak 40 mL.

Sediaan vankomisin yang digunakan adalah sediaan cair dengan konsentrasi 30 µg/mL.

5. Formulasi larutan kitosan dan kolagen

Sediaan larutan kitosan dibuat dengan melarutkan kitosan bubuk dengan larutan asam asetat 1,5% sehingga didapatkan larutan kitosan dengan konsentrasi 0,5 g/mL. Homogenisasi dilakukan dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam dengan kecepatan 1200 rpm dalam suhu ruang. Sediaan kolagen dibuat dengan mengencerkan larutan kolagen pada air terdeionisasi dan diaduk secara manual hingga larutan menjadi homogen (Thongchai dkk., 2019).

6. Pelapisan permukaan dengan silane

Spesimen yang telah dilakukan sonikasi dilakukan pelapisan dengan silane. Silane diaplikasikan menggunakan *microbrush* pada permukaan spesimen. Pelapisan dengan *silane* bertujuan untuk memperkuat ikatan adhesi antara bahan *coating* dengan permukaan spesimen.

7. Pelapisan permukaan Spesimen Aloi CoCr

a. Campuran matriks kitosan kolagen – vankomisin

Pada kelompok yang diberikan perlakuan *coating* dengan larutan kitosan–kolagen–vankomisin–kolagen ditetapkan sebagai kelompok perlakuan. Pelapisan dilakukan dengan teknik *dipping layer by layer* dan dilakukan dalam *fumehood cabinet*. Pembenanaman

atau *dipping* spesimen dilakukan selama 1 menit di setiap larutan. Lapisan pertama berupa sediaan larutan kitosan. Setelah itu dilanjutkan dengan *dipping* sediaan kolagen dan dilanjutkan dalam larutan vankomisin serta kolagen. *Dipping* dilakukan secara bergantian antara tiap larutan dengan syarat lapisan sebelumnya telah kering hingga 5 kali kelompok *dipping* yang telah ditetapkan.

b. Campuran matriks kitosan kolagen

Pada kelompok yang diberikan perlakuan *coating* dengan larutan kitosan–kolagen ditetapkan sebagai kelompok kontrol negatif. Pelapisan dilakukan dengan teknik *dipping layer by layer* dan dilakukan dalam *fumehood cabinet*. Pembenanaman atau *dipping* spesimen dilakukan selama 1 menit di setiap larutan. Lapisan pertama berupa sediaan larutan kitosan. Setelah itu dilanjutkan dengan *dipping* sediaan kolagen. *Dipping* dilakukan secara bergantian antara tiap larutan dengan syarat lapisan sebelumnya telah kering hingga 5 kali kelompok *dipping* yang telah ditetapkan.

c. Campuran matriks kitosan kolagen – klorheksidin

Pada kelompok yang diberikan perlakuan *coating* dengan larutan kitosan–kolagen–klorheksidin– kolagen ditetapkan sebagai kelompok kontrol positif. Pelapisan dilakukan dengan teknik *dipping layer by layer* dan dilakukan dalam *fumehood cabinet*. Pembenanaman atau *dipping* spesimen dilakukan selama 1 menit di

setiap larutan. Lapisan pertama berupa sediaan larutan kitosan. Setelah itu dilanjutkan dengan *dipping* sediaan kolagen dan dilanjutkan dalam larutan klorheksidin serta kolagen. *Dipping* dilakukan secara bergantian antara tiap larutan dengan syarat lapisan sebelumnya telah kering hingga 5 kali kelompok *dipping* yang telah ditetapkan.

8. Sterilisasi spesimen

Sterilisasi material dengan sinar UV dalam UV Cabinet. Material diletakkan dalam cawan petri dengan tiap sumuran terdapat satu spesimen. Penyinaran dilakukan di kedua permukaan masing-masing selama 1 jam.

9. Pembuatan media kaldu BHI (*Brain Heart Infusion*)

Pembuatan media kaldu BHI (*Brain Heart Infusion*) dilakukan dengan pelarutan bubuk kaldu BHI sejumlah 18,5 gram dengan aquades sebanyak 500 mL. Keduanya dicampur dalam glass beaker menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Selanjutnya, larutan dipindahkan dalam duran dan ditutup serta dilapisi dengan aluminium foil untuk menghindari kontaminasi mikroba. Duran yang berisi sediaan kaldu BHI selanjutnya dimasukkan dalam autoklaf untuk dilakukan sterilisasi selama 2 jam pada suhu 121°C.

10. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan menginokulasikan biakan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media kaldu BHI yang telah

dibuat sebelumnya. Kaldu BHI diambil sebanyak 10 mL dan diletakkan pada tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri dan dilakukan inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

11. Penyetaraan McFarland

Kultur cair yang telah diinkubasi kemudian dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. BHI yang terdapat dalam tabung reaksi dibuang dan menyisakan eksudat. Sebanyak 10 mL saline diambil dan ditambahkan pada tabung reaksi berisi eksudat dan dilakukan homogenisasi menggunakan vortex. Selanjutnya ambil 50µl cairan yang telah homogen dan tambahkan ke dalam tabung reaksi yang baru serta tambahkan 7 mL saline. Homogenisasi dilakukan secara manual dan dibandingkan kekeruhannya dengan standar McFarland.

12. Uji penghambatan pembentukan biofilm

Uji penghambatan pembentukan biofilm dilakukan dengan *dipping* atau perendaman sampel pada 5 ml kaldu BHI dan 500 µl suspensi McFarland. Inkubasi spesimen dalam incubator selama 40 jam dalam suhu 37°C. Proses ini memberikan kesempatan pada bakteri untuk menghasilkan substrat biofilm pada permukaan spesimen.

13. Pembacaan Hasil

Sampel yang telah dilakukan *dipping* dan inkubasi selanjutnya dibilas dengan menggenangi spesimen pada *well plate* menggunakan 4 mL larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) tiap sumuran. Pembilasan ini

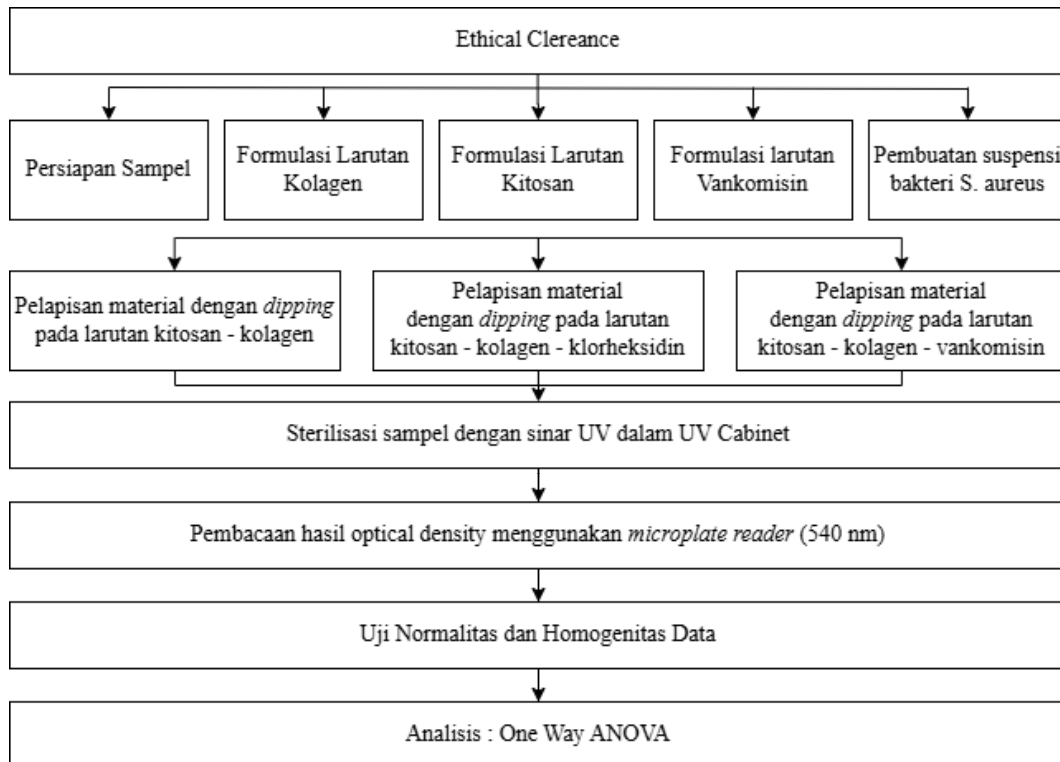
bertujuan untuk mengeliminasi bakteri *S. aureus* maupun sel-sel planktonik lain yang tidak melekat pada permukaan spesimen. Selanjutnya, spesimen direndam dalam 5 mL larutan kristal violet 0,1% pada suhu ruang selama 20 menit tiap sumuran. Proses ini bertujuan untuk mewarnai biofilm bakteri sehingga dapat diamati absorbansinya. Setelah itu, dilakukan pembersihan kembali menggunakan 5 mL larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) dan dilanjutkan dengan pembersihan dalam 4 mL larutan etanol. Larutan etanol tersebut selanjutnya digunakan untuk mengukur densitas optik. Larutan hasil pembilasan dengan etanol diambil sebanyak 100 μ l dan dimasukkan dalam *microplate 96 well* dengan 8 kali pengulangan. Hasil uji berupa *optical density* (OD) yang dibaca menggunakan alat *microplate reader* dengan panjang gelombang 540 nm.

G. ANALISIS HASIL PENELITIAN

Analisis secara kuantitatif menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 540 nm. Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas dilakukan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Uji homogenitas dilakukan menggunakan metode *Levene Test*. Analisis secara statistik dinyatakan sebagai Mean \pm Standar deviasi. Apabila data terdistribusi normal, evaluasi statistik dilakukan dengan metode ANOVA (A One Way Analysis of Variance) dengan perangkat lunak statistik, yaitu SPSS. Selanjutnya apabila terdapat perbedaan signifikan antarkelompok maka analisis statistik dilanjutkan

dengan uji Post hoc LSD. Apabila didapatkan data tidak normal, maka evaluasi statistikal dilakukan dengan metode Kruskal Wallis.

H. ALUR PENELITIAN



Gambar 6. Alur Penelitian

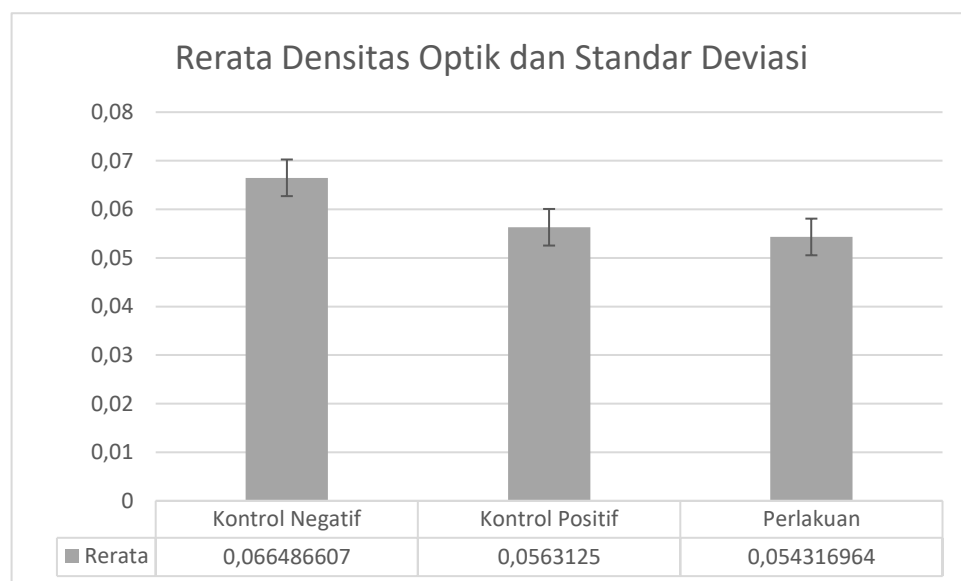
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai efek modifikasi permukaan aloi kobalt kromium dengan teknik pelepasan obat terkontrol (vankomisin-kitosan-kolagen) terhadap kemampuan anti-biofilm *Staphylococcus aureus* telah dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu dan Laboratorium Riset Terpadu dan Laboratorium Preklinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. Penelitian ini mengukur kemampuan anti-biofilm *Staphylosossus aureus* pada 12 permukaan subjek material aloi kobalt kromium yang terbagi dalam 3 kelompok yakni yang mendapat perlakuan pelapisan campuran matriks kitosan-kolagen–vankomisin-kolagen, matriks kitosan-kolagen, dan campuran matriks kitosan-kolagen–klorheksidin-kolagen. Setiap kelompok masing-masing berjumlah 4 sampel kemudian direndam dalam suspensi kaldu BHI yang berisi bakteri *S. aureus* selama 24 jam dan dibilas menggunakan larutan PBS. Spesimen selanjutnya direndam dalam larutan kristal violet 0,1% selama 20 menit dan dilakukan pembilasan kedua menggunakan larutan PBS dan etanol. Hasil penelitian berupa data nilai densitas optik yang didapatkan dari pengukuran absorbansi biofilm *S. aureus* pada permukaan spesimen aloi kobalt kromium menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 540 nm.

Tabel 6. Hasil pengukuran densitas optik biofilm *S. aureus* pada permukaan sampel aloi kobalt kromium setelah pelapisan matriks.

Nomor Sampel	Kontrol Negatif	Kelompok Positif	Perlakuan
1	0,063	0,051	0.054
2	0,074	0,063	0.057
3	0,064	0,060	0.056
4	0,065	0,052	0.051
N =	$\bar{x} = 0,066$ SD = 0,00485	$\bar{x} = 0,056$ SD = 0,00597	$\bar{x} = 0.054$ SD = 0.00294



Gambar 7. Rerata dan standar deviasi densitas optik biofilm *S. aureus*

Tabel 6 menunjukkan bahwa rerata dan simpang baku pada kelompok kontrol negatif berupa pelapisan kitosan –kolagen adalah sebesar $0,066 \pm 0,004$. Rerata dan simpang baku pada kelompok kontrol positif berupa pelapisan kitosan–kolagen–klorheksidin adalah sebesar $0,055 \pm 0,001$, sedangkan rerata dan simpang baku pada kelompok perlakuan berupa pelapisan kitosan–kolagen–vankomisin adalah sebesar $0,051 \pm 0,001$.

Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas distribusi data dari masing-masing sampel. Hasil uji *Shapiro-Wilk* disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* nilai Densitas Optik kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif

	Perlakuan	Sig.
Densitas Optik	Kontrol Negatif	0,065
	Kelompok Positif	0,312
	Perlakuan	0,689

Hasil uji *Shapiro-Wilk* pada Tabel 7. menunjukkan kelompok kontrol negatif terdistribusi normal ($p > 0,05$); kelompok kontrol positif terdistribusi normal ($p > 0,05$); dan kelompok perlakuan terdistribusi normal ($p > 0,05$). Dari ketiga kelompok tersebut semua sampel memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal.

Data selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan metode *Levene's Test*. Hasil uji homogenitas disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji homogenitas *Levene's Test* nilai Densitas Optik kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2	9	0,124

Hasil uji homogenitas *Levene's Test* pada Tabel 9. menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,124. Berdasarkan hasil tersebut, didapatkan probabilitasnya $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang didapatkan homogen.

Berdasarkan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene's Test* yang telah dilakukan, data hasil penelitian terdistribusi normal dan bersifat homogen sehingga

dapat dilakukan analisis statistik parametrik untuk menguji hipotesis. Analisis statistik parametrik dilakukan menggunakan uji *one-way* ANOVA untuk mengetahui apakah ada efek atau pengaruh bahan uji terhadap nilai densitas optik biofilm. Hasil uji *one-way* ANOVA disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji *one-way* ANOVA nilai *Optical Density* (OD) pada kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif

	Jumlah kuadrat	Derajat bebas (df)	F	Sig
Antar Kelompok	.000	2	7,330	0,013*
Dalam Kelompok	.000	9		
Total	.001	11		

Keterangan:

F : nilai F hitung

Sig : signifikansi

* : terdapat tingkat kemaknaan ($p < 0,05$)

Hasil uji *one-way* ANOVA nilai densitas optik pada kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif pada Tabel 9. Menunjukkan terdapat perbedaan densitas optik biofilm yang signifikan ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *Post-Hoc* untuk mengetahui perbedaan nilai densitas optik antar kelompok.

Tabel 10. Hasil uji *Post-Hoc* nilai densitas optik pada kelompok kontrol positif, perlakuan, dan kontrol negatif

	K(-)	K(+)	P
K(-)		0,016*	0,006*
K(+)	0,016*		0,566
Perlakuan	0,006*	0,566	

*= $p < 0,05$

Keterangan:

K(+) : Kontrol positif (pelapisan klorheksidin- matriks kitosan-kolagen)

K(-) : Kontrol negatif (pelapisan matriks kitosan-kolagen)

P : Perlakuan (pelapisan vankomisin – matriks kitosan-kolagen)

Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc* LSD pada Tabel 10. menunjukkan bahwa:

(1) Tidak terdapat perbedaan densitas optik biofilm yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif ($p > 0,05$). (2) Terdapat perbedaan densitas optik biofilm yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). (3) Terdapat perbedaan densitas optik biofilm yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan kemampuan penghambatan pembentukan biofilm pada permukaan Alloi CoCr pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol negatif memiliki kemampuan penghambatan biofilm yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif.

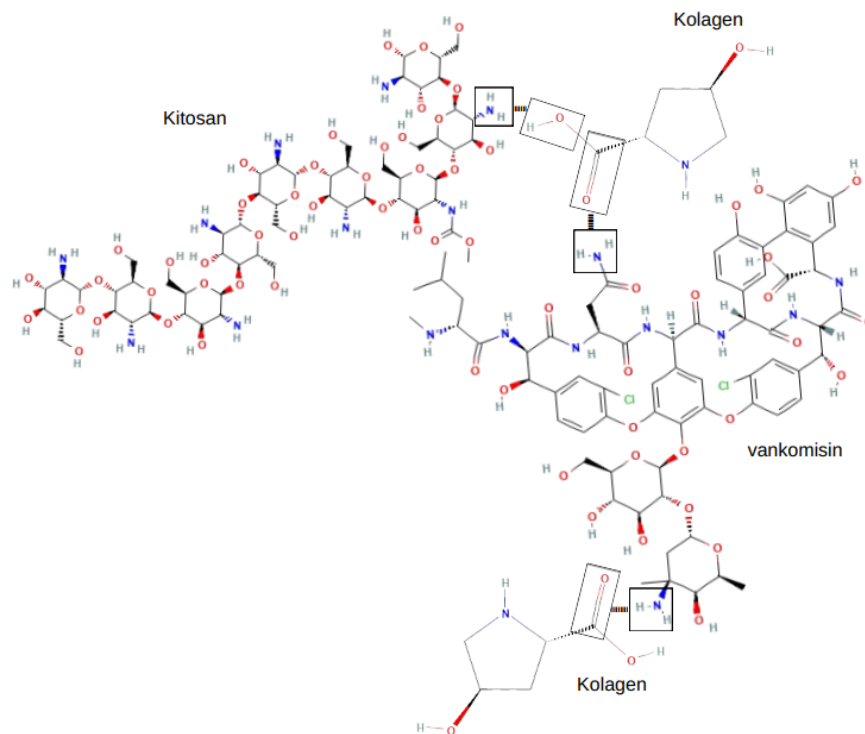
B. Pembahasan

Penelitian mengenai efek *coating* vankomisin-kitosan-kolagen terhadap penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada permukaan aloi kobalt kromium melalui teknik pelepasan obat terkontrol menghasilkan data berupa densitas optik biofilm. Pengukuran densitas optik biofilm digunakan untuk melihat densitas biofilm yang terbentuk pada permukaan spesimen aloi kobalt kromium.

Densitas biofilm pada penelitian ini dilihat dari penyerapan atau nilai absorbansi cahaya oleh biofilm. Semakin tinggi nilai densitas optik dalam suatu larutan maka jumlah cahaya yang diserap akan semakin banyak yang juga berarti bakteri atau biofilm yang terbentuk semakin banyak (Iswadi dkk., 2016).

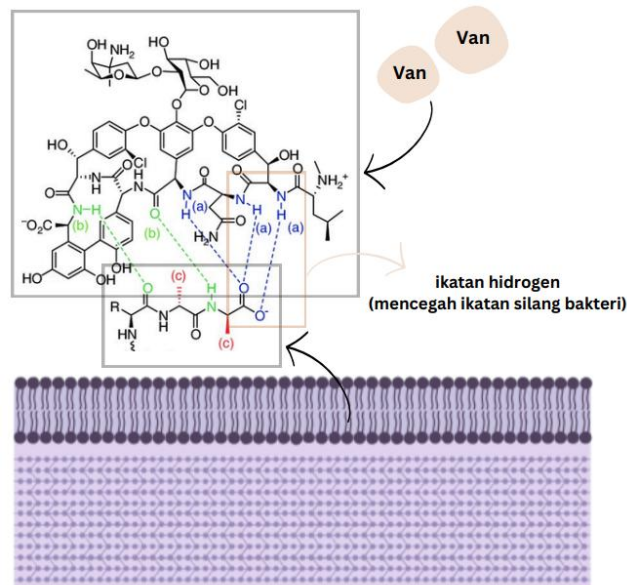
Berdasarkan tabel rerata densitas optik biofilm *S. aureus* yang telah disajikan, diketahui bahwa biofilm yang melekat pada permukaan spesimen aloi kobalt kromium kelompok kontrol negatif relatif lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan densitas biofilm yang signifikan antarkelompok perlakuan, kontrol negatif, dan kontrol positif ($p < 0,05$) sehingga dapat diartikan bahwa larutan kitosan-kolagen-vankomisin-kolagen dapat memberikan efek antibakteri pada permukaan aloi kobalt kromium. Interaksi kimiawi antara senyawa kitosan, kolagen, vankomisin, dan kolagen dapat diilustrasikan dalam gambar sebagai berikut:



Gambar 8. Interaksi kimiawi kitosan-kolagen-vankomisin-kolagen (Dimodifikasi dari PubChem, 2024)

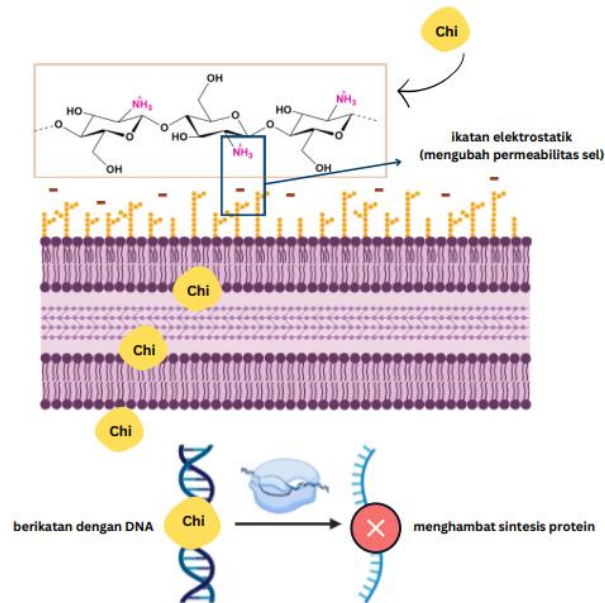
Hasil yang didapatkan pada uji ANOVA sesuai dengan teori yang dipaparkan oleh Zhang dkk. (2023) bahwa vankomisin memiliki sifat antibakteri yang bekerja dengan prinsip penonaktifan prekursor sintesis dinding sel yang terletak pada septum mitosis. Menurut Flint dan Davis (2022), vankomisin bekerja dengan cara mengganggu perakitan peptidoglikan dinding sel bakteri dengan menghambat ikatan silang serta polimerisasi dari glikan. Ikatan silang ini berfungsi untuk memperkuat struktur peptidoglikan terhadap tekanan osmotik yang berfluktuasi pada matriks dinding sel bakteri.



Gambar 9. Mekanisme kerja vankomisin sebagai agen antibakteri (Dimodifikasi dari Kell dkk., 2008)

Dalam penelitian ini dilakukan penambahan kolagen dan kitosan sebagai matriks. Kolagen berperan sebagai agen pengontrol pelepasan obat. Senyawa ini akan terdegradasi secara bertahap sehingga pelepasan obat dapat terkontrol dengan baik (Ray dkk., 2013). Struktur *hierarchical* dan *triple helix* pada kolagen memodulasi serta mengubah panjang polipeptida obat yang berdampak pada waktu paruh molekul obat (Chen dkk., 2023). Kitosan berperan sebagai *cross linking agent* antara kolagen dan antibiotik vankomisin serta meningkatkan efektivitas efek antibakteri larutan. Senyawa ini bekerja dengan mengganggu membran sitoplasmik sehingga dapat terjadi kebocoran pada sitosol bakteri dan menjadi penyebab kematian bakteri (Si dkk., 2021). Kombinasi kitosan dan kolagen menginisiasi terbentuknya interaksi elektrostatik antara gugus amino kitosan dan gugus karbon kolagen. Penggabungan dua jenis polimer alami ini dapat meningkatkan sifat

biokompatibilitas dan biodegradabilitas dari bahan pelapis permukaan (Wijayanti dkk. 2024).



Gambar 10. Mekanisme kerja sifat antibakteri kitosan (Dimodifikasi dari Guarnieri dkk., 2022)

Hasil uji *post-hoc* LSD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna dan signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif tetapi tidak memiliki perbedaan yang bermakna serta signifikan dengan kelompok kontrol positif. Dengan demikian dapat diartikan bahwa kemampuan penghambatan biofilm pada kelompok perlakuan setara dengan kelompok kontrol positif.

Efek antibakteri pada kelompok positif diperoleh dari kandungan klorheksidin 0,1%. Klorheksidin 0,1% saat ini merupakan *gold standard* dalam mengontrol pertumbuhan biofilm, terutama di rongga mulut. Selain itu, klorheksidin merupakan agen antimikroba dengan spektrum luas sehingga dapat

menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun gram negatif (Sajjan dkk., 2016). Klorheksidin bekerja dengan mengikat muatan negatif dari bakteri dan menyerap molekul fosfat pada permukaan sel bakteri untuk penetrasi ke dalam sel. Sitoplasma bakteri akan keluar dan terjadi penghambatan berbagai aktivitas enzim dalam sel bakteri (Deus dan Ouanounou, 2022).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa pemberian larutan vankomisin dengan matriks kitosan–kolagen melalui teknik pelepasan obat terkontrol dapat memberikan efek rendahnya densitas optik biofilm *S. aureus* pada permukaan spesimen aloi kobalt kromium.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kitosan-kolagen-vankomisin-kolagen sebagai *coating* pada permukaan aloi kobalt kromium dapat menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* melalui teknik pelepasan obat terkontrol.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi yang optimal dalam memanfaatkan antibiotik vankomisin terhadap penghambatan pembentukan biofilm *S. aureus*
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai paruh waktu pelepasan obat terkontrol pada permukaan aloi kobalt kromium.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas vankomisin pada berbagai konsentrasi terhadap jaringan mukosa oral.

DAFTAR PUSTAKA

- Achinas, S., Charalampogiannis, N., dan Euverink, G. J. W., (2019). A Brief Recap of Microbial Adhesion and Biofilms. *Appl. Sci.* 9(14): 2801. <https://doi.org/10.3390/app9142801>
- Albu, M. G., Titorencu, I., dan Ghica, M. V., (2011). Collagen-Based Drug Delivery Systems for Tissue Engineering. Dalam: Pignatello, R. *Biomaterials Applications for Nanomedicine*. 17th ed. Kroasia: InTech. pp. 333-358.
- Alhasyimi, A. A., Sunarintyas, S., Marsetyawan, D., Soesatyo, H., (2015). Pengaruh Implantasi Subkutan Logam Kobalt Kromium sebagai Bahan Alternatif Mini Screw Orthodontics terhadap Reaksi Jaringan Kelinci Albino. *Maj Ked Gi Ind.* 1(1): 94 – 101.
- Alqarni, D., Nakajima, M., Tagami, J., Alzahrani, M. S., Sá-Pinto, A. C., Alghamdi, A., Hosaka, K., Alzahrani, F., Alsadon, O. A., Alharbi, R. A., Almalki, S. S., dan Alzahrani, A. A. H. (2023). Study of Streptococcus mutans in Early Biofilms at the Surfaces of Various Dental Composite Resins. *Cureus.* 15(4): 11-13. <https://doi.org/10.7759/cureus.38090>
- Amaravathy P., Sathyanarayanan, S., Sowndarya, S., dan Rajendran, N., (2014). Bioactive HA/Ti2 Coating on Magnesium Alloy for Biomedical Applications. *Ceram. Int.* 40(5): 6617 – 6630.
- An, B., Lin, Y. S., dan Brodsky, B., (2016). Collagen Interactions: Drug and Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 97(1): 69-84.
- Anggani, H., Perdana, R., Siregar, E., dan Bachtiar, E. (2021). The Effect of Coating Chitosan on Porphyromonas gingivalis Biofilm Formation in The Surface of Orthodontic Mini-implant. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 12(1): 84–88. https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_95_20
- Anusavice, K.J., Chiayi, S., Rawls, H.R. (2013). Phillips' Science of Dental Materials.ed ke-12: Elsevier.

- Arciola, C. R., Campoccia, D., Ehrlich, G. D., dan Montanaro, L. (2015). Biofilm-Based Implant Infections in Orthopaedics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 830(1): 29–46. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11038-7_2
- Chen, Q., Pei, Y., Tang, K., dan Albu-Kaya, M. G. (2023). Structure, Extraction, Processing, and Applications of Collagen As An Ideal Component For Biomaterials. *Collagen Leather.* 5(1): 1-27. <https://doi.org/10.1186/s42825-023-00127-5>
- Cong, Y., Yang, S., dan Rao, X. (2020). Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus Infections: A Review of Case Updating And Clinical Features. *J. Adv. Res.* 21(1): 169–176. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.10.005>
- Daniel, Wayne W. dan Chad L. Cross. (2013). Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Deus, F., P. dan Ouanounou A. (2022). Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effect. *International Dental Journal.* 72(3): 269-277.
- Dheeraj K., Waqas A. A., Uroosa, K., Sumaiya K., Hiba S., Kiran F., Syed A., Kashif A., dan Faria F. (2023). Multiplex System: Identification of Vancomycin (Vana) And Methicillin (Meca) Resistance Genes In Staphylococcus Aureus. *BioSight,* 4(4): 9–16. <https://doi.org/10.46568/bios.v4i4.146>
- Dwiyanti, S. dan Octavia, M. (2019). Penggunaan Implan Gigi Sebagai Alternatif Gigi Tiruan. *DJM.* 18(1): 40-49.
- El-Araby, A., Janati, W., Ullah, R., Ercisli, S., dan Errachidi, F. (2023). Chitosan, Chitosan Derivatives, and Chitosan-Based Nanocomposites: Eco-Friendly Materials For Advanced Applications. *FCHEM.* 11(1): 1-21. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1327426>
- Esteves, G. M., Esteves, J., Resende, M., Mendes, L., dan Azevedo, A. S. (2022). Antimicrobial and Antibiofilm Coating of Dental Implants. *Antibiotics.* 11(2): 1-15. MDPI. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020235>

- Fayisa, W. O., dan Tuli, N. F. (2023). Review on Staphylococcus Aureus. *Int-J of Nursing Care and Research*. 1(2): 1-8.
- Fisher, B. D., Harvey R. A., dan Cornelissen, C.N. (2013). Microbiology. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Flint, A. J., dan Davis, A. P. (2022). Vancomycin Mimicry: Towards New Supramolecular Antibiotics. *OBC*. 20(39): 7694–7712. <https://doi.org/10.1039/d2ob01381a>.
- Freiria O., C. A., Moraes, L. G. da S., Vilela Teixeira, A. B., dan Pagnano, V. O. (2023). Antimicrobial Activity of Cleansers On The Cobalt-Chromium Surface Of Removable Partial Denture: A Systematic Review. *Biofouling*. 39(9): 916-927. <https://doi.org/10.1080/08927014.2023.2290120>
- Gupta, S., Maitra, S., Farooqi, A. S., Gupta, K., Wetpiriyakul, P., Pereira, M., Durbin-Johnson, B., dan Gupta, M. C. (2023). Impact of Implant Metal Type And Vancomycin Prophylaxis On Postoperative Spine Infection: An In-Vivo Study. *Spine Deform*. 11(4): 815–823. <https://doi.org/10.1007/s43390-023-00674-1>
- Guarnieri, A., Triunfo, M., Scieuzo, C., Ianniciello, D., Tafi, E., Hahn, T., Zibek, S., Salvisa, R., De Bonis, A., dan Falabella, P. (2022). Antimicrobial Properties of Chitosan from Different Developmental Stages of the Bioconverter insect *Hermetia illucens*. *Sci-Rep* 12. 8084 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12150-3>
- Hallmann, L., dan Gerngroß, M. D. (2022). Chitosan and its application in dental implantology. *J. Stomatol Oral and Maxillofac Surg*. 123(6): 701-707. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2022.02.006>
- Hasan, A. A. dan Kadhim Mohammed, A. (2023). The Effect of Recasting on Microhardness of Cobalt/Chromium Base Metal Alloys. *J. Dent. Sci*. 11(1), 140–145. <https://doi.org/10.25130/tjds.11.1.16>

- Hernandez-Cuellar, E., Guerrero-Barrera, A. L., Avelar-Gonzalez, F. J., Díaz, J. M., Santiago, A. S. de, Chávez-Reyes, J., dan Poblano-Sánchez, E. (2022). Characterization of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* polymicrobial biofilm on different surfaces. *Revista Iberoamericana de Micología*, 39(2): 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2022.04.001>
- Hu, J., Han, X., Ma, X., Chen, X., Zhou, Z., Peng, P., Yu, Z., Hou, Y., Han, P., Pang, L., Yang, Y., Xu, J., dan Wu, W. (2024). Comparative Proteomic Analysis Of Vancomycin-Sensitive And Vancomycin-Intermediate Resistant *Staphylococcus Aureus*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 43(1): 139–153. <https://doi.org/10.1007/s10096-023-04709-3>
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., dan Rahman, A. (2021). *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 18(14): 1-20. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602>
- Intihani, H. N., Wahyuono, R. A., dan Permatasari, S. N. (2020). *Biopolimer Kitosan dan Penggunaannya dalam Formulasi Obat*. Gresik: Graniti.
- Indratama, D. dan Yenita. (2019). Uji Efektivitas Antibiotik Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Pandu Husada*. 1(1): 61-65.
- Iswadi, Lizayana, dan Mudatsir. (2016). Densitas Bakteri Pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*. 1(1): 95-106.
- Jaferník, K., Ładniak, A., Blicharska, E., Czarnek, K., Ekiert, H., Wiącek, A. E., dan Szopa, A. (2023). Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems. *Molecules*. 28(4): 1-17. <https://doi.org/10.3390/molecules28041963>
- Juliano, H., Gapsari, F., Izzuddin, H., Sudiro, T., Phatama, K. Y., Sukmajaya, W. P., Zuliantoni, Putri, T. M., dan Sulaiman, A. M. (2022). HA/ZrO₂Coating on

CoCr Alloy Using Flame Thermal Spray. *Evergreen*, 9(2): 254–261.
<https://doi.org/10.5109/4793632>

Kassapidou, M., Franke Stenport, V., Hjalmarsson, L., dan Johansson, C. B. (2017). Cobalt-chromium alloys in fixed prosthodontics in Sweden. *Acta Biomaterialia Odontologica Scandinavica*, 3(1): 53–62.
<https://doi.org/10.1080/23337931.2017.1360776>

Kell, A. J., Stewart, G., Ryan, S., Peytavi, R., Boissinot, M., Huletsky, A., Bergeron, M. G., dan Simard, B. (2008). Vancomycin-Modified Nanoparticles for Efficient Targeting and Preconcentration of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *ACS nano*. 2(9): 1777–1788. <https://doi.org/10.1021/nn700183g>

Kementerian Kesehatan RI. 2018. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). (2018). Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI.

Khan, R., & Khan, M. H. (2013). Use of collagen as a biomaterial: An update. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(4): 539–542.
<https://doi.org/10.4103/0972-124X.118333>

Kou, S., Peters, L., dan Mucalo, M. (2022). Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms. In *Carbohydrate Polymers*. 282(1): 1-15.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119132>

Li, B., Xia, X., Guo, M., Jiang, Y., Li, Y., Zhang, Z., Liu, S., Li, H., Liang, C., dan Wang, H. (2019). Biological and antibacterial properties of the micro- nanostructured hydroxyapatite/chitosan coating on titanium. *Scientific Reports*, 9(1): 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49941-0>

Li, J., Wu, X., Liang, Z., Wei, Z., Chen, Z., Wang, Y., Li, W., Zhang, W., Yang, R., Qiu, H., Li, X., Li, Q., dan Chen, J. (2023). A programmed surface on dental implants sequentially initiates bacteriostasis and osseointegration. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces*, 230(1): 1-14.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2023.113477>

- Li, W., Thian, E. S., Wang, M., Wang, Z., dan Ren, L. (2021). Surface Design for Antibacterial Materials: From Fundamentals to Advanced Strategies. *Advanced Science*. 8(19): 1-23. <https://doi.org/10.1002/advs.202100368>
- Manisha, D., Abdullah, A. M. S., Zobayda, F. H., Nanda, B., Amrita, P., dan Sukumar, S. (2019). Characterization of Staphylococcus aureus isolated from human dental infection. *African Journal of Microbiology Research*, 13(14), 273–278. <https://doi.org/10.5897/ajmr2019.9076>
- Meyer, F., Enax, J., Epple, M., Amaechi, B. T., dan Simader, B. (2021). Cariogenic biofilms: Development, properties, and biomimetic preventive agents. *Dentistry Journal*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/dj9080088>
- Minkiewicz-Zochniak, A., Jarzynka, S., Iwańska, A., Strom, K., Iwańczyk, B., Bartel, M., Mazur, M., Pietruczuk-Padzik, A., Konieczna, M., Augustynowicz-Kopeć, E., dan Olędzka, G. (2021). Biofilm formation on dental implant biomaterials by staphylococcus aureus strains isolated from patients with cystic fibrosis. *Materials*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/ma14082030>
- National Center for Biotechnology Information. (2024) PubChem Compound Summary for CID 5810, Hydroxyproline, diakses pada 17 Desember 2024 dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydroxyproline>.
- National Center for Biotechnology Information, 2024, PubChem Compound Summary for CID 6420023, Vancomycin Hydrochloride, diakses pada 17 Desember 2024 dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vancomycin-Hydrochloride>.
- National Center for Biotechnology Information, 2024, PubChem Compound Summary for CID 71853, Chitosan. diakses pada 17 Desember 2024 dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chitosan>.
- Noort R.V. (2013). *Introduction to dental materials Fourth edition*. Edinburgh. Elsevier.

- Rath, S., Bal, S. C. B., dan Dubey, D. (2021). Oral Biofilm: Development Mechanism, Multidrug Resistance, and Their Effective Management with Novel Techniques. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 12(1). <https://doi.org/10.5041/RMMJ.10428>
- Rather, M. A., Gupta, K., dan Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian Journal of Microbiology* 52(4): 1701–1718. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x>
- Ray, N., Van Noorden, T., Radu, F. A., Friess, W., dan Knabner, P. (2013). Drug release from collagen matrices including an evolving microstructure. *ZAMM Zeitschrift Fur Angewandte Mathematik Und Mechanik*, 93(10): 811–822. <https://doi.org/10.1002/zamm.201200196>
- Rosanto, Y. B., Widjijono, W., dan Triyono, T. (2016). Pengaruh konsentrasi cobalt chromium pada uji hemolisis sebagai implan gigi. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(3): 116-120. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.10737>
- Sahariah, P., dan Másson, M. (2017). Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure Activity Relationship. *Biomacromolecules*. 18(11): 3846–3868. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01058>
- Sajjan, P., Laxminarayan N., Kar, P. P., dan Sajjanar, M. (2016). Chlorhexidine as an Antimicrobial Agent In Dentistry – A Review. *OHDM*. 15(4): 1-8.
- Sakaguchi, R., Ferracane, J. L., dan Powers, J. (2019). *Craig’s Restorative Dental Materials* (R. Sakaguchi, J. L. Ferracane, & J. Powers. 14th ed. Elsevier.
- Salar-Vidal, L., Auñón, Á., dan Esteban, J. (2023). Molecular Diagnosis of Osteoarticular Implant-Associated Infection: Available Techniques and How We Can Use Them. *Prosthesis*, 5(1): 1–12. <https://doi.org/10.3390/prosthesis5010001>

- Santoso, B., Andrean, F., Gunawan, R., dan Nasution. A. K. (2023). Fibrous Composite PCL/HA Coating on Metallic Implant Materials for Implant Reconstruction Applications. *AIP Conference Proceedings*. 2601(01): 1-20.
- Selim, S. (2022). Mechanisms of gram-positive vancomycin resistance (Review). *Biomedical Reports*, 16(1): 1-14. <https://doi.org/10.3892/br.2021.1490>
- Si, Z., Hou, Z., Vikhe, Y. S., Thappeta, K. R. V., Marimuthu, K., De, P. P., Ng, O. T., Li, P., Zhu, Y., Pethe, K., dan Chan-Park, M. B. (2021). Antimicrobial Effect of a Novel Chitosan Derivative and Its Synergistic Effect with Antibiotics. *Applied Materials and Interfaces*, 13(2): 3237–3245. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c20881>
- Soesetyaningsih, E. dan Azizah (2020) Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Berkala Sainstek*. 8(3): 75-79.
- Stogios, P. J., dan Savchenko, A. (2020). Molecular Mechanisms of Vancomycin Resistance. *Protein Science* 29(3): 654–669. <https://doi.org/10.1002/pro.3819>
- Sukma, H., Rahmalina, D., & Salam, D. (2016) Peningkatan Kekerasan Permukaan Material Komposit Matriks Aluminium Melalui Proses Thermal Sprayed Coating. *Jurnal Universitas Muhammadiyah Jakarta*. pp. 1-8.
- Sulistiani, D. A., Widjijono, W., dan Dharmastiti, R. (2022). Bacterial Adhesion of Streptococcus mutans to Cobalt Chromium Recast Alloys. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 7(2): 84-87. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.53329>
- Sun, L., Xu, Y., Han, Y., Cui, J., Jing, Z., Li, D., Liu, J., Xiao, C., Li, D., dan Cai, B. (2023). Collagen-Based Hydrogels for Cartilage Regeneration. In *Orthopaedic Surgery* 15(12): 3026–3045. <https://doi.org/10.1111/os.13884>
- Talaro, K., dan Chess, B. (2013). Foundations in Microbiology Twelfth Edition. New York. McGraw-Hill Education.

- Talaro, K., dan Chess, B. (2024). *Foundations in Microbiology Eighth Edition*. New York. McGraw-Hill Education.
- Thenappan, P., R. Vijayalakshmi, Nalina Kumari, C. B., Ravi, N., Senthil, S., dan Mahendra, J. (2023). Biofilm on Dental Implants - An Overview. *International Journal of Current Research and Review*, 15(12): 08–11. <https://doi.org/10.31782/ijcrr.2023.151203>
- Thongchai, K., Chuysinuan, P., Thanyacharoen, T., Techasakul, S., dan Ummartyotin, S. (2020). Integration of collagen into chitosan blend film composites: physicochemical property aspects for pharmaceutical materials. *Applied Sciences*. 2(2): 1-7. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2052-5>
- Timbó, I. C. G., Oliveira, M. S. C. S., & Regis, R. R. (2022). *Effect of sanitizing solutions on cobalt-chromium alloys for dental prostheses: A systematic review of in vitro studies*. *Journal of Prosthetic Dentistry*. pp. 1-10.
- Tortora, G. J., Funke, B. R. dan Case, C. L., (2013). *Microbiology : an Introduction*. Edisi Kesebelas. New York. Pearson Education, Inc.
- Tortora, G. J., Funke, B. R. dan Case, C. L. (2019). *Microbiology An Introduction Thirteenth Edition*. Boston: Pearson Education Inc.
- Uriciuc, W. A., Boşca, A. B., Băbţan, A. M., Vermeşan, H., Cristea, C., Tertiş, M., Păşcuţă, P., Borodi, G., Suci, M., Barbu-Tudoran, L., Popa, C. O., dan Ilea, A. (2022). Study on the Surface of Cobalt-Chromium Dental Alloys and Their Behavior in Oral Cavity as Cast Materials. *Materials*, 15(9). <https://doi.org/10.3390/ma15093052>
- Uriciuc, W. A., Vermeşan H., Boşca, A. N., dan Ilea, A. (2018). Interaction of Saliva with Cobalt-Chromium-Based Dental Alloys in Casted Prosthetic Pieces. *Biomedical Engineering & Biosciences*, 14(2): 1-4. <https://doi.org/10.19080/ctbeb.2018.14.555882>

- Vaicelyte, A., Janssen, C., Borgne, M. Le, dan Grosgeat, B. (2020). Cobalt–Chromium Dental Alloys: Metal Exposures, Toxicological Risks, CMR Classification, and EU Regulatory Framework. *Crystals*. 10(12): 1–16. <https://doi.org/10.3390/cryst10121151>
- Wang, H. (2023). The Potential of Collagen Treatment for Comorbid Diseases. *Polymers* 15(19). <https://doi.org/10.3390/polym15193999>
- Wijayanti, D. A., Herawati, D., Karina, V. M., dan Murdiastuti, K. 2024. Hidrogel Kolagen Kitosan: Biomaterial Scaffold Potensial Untuk Perawatan Regeneratif Periodontal. *IJKG*. 20(1): 124-132.
- Wilson, C., Valquier-Flynn, H., Sandoval, J., Okuom, M. O., Lukowicz, R., Merchant, S., Caballero, J., Okuom, M., Huber, C., Durham Brooks, T., Wilson, E., Clement, B., Wentworth, C. D., dan Holmes, A. E. (2017). Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Journal of Engineering and Technology*. 6(4): 1-26. <https://www.researchgate.net/publication/322488843>
- Wu, C. L., Hsueh, J. Y., Yip, B. S., Chih, Y. H., Peng, K. L., dan Cheng, J. W. (2020). Antimicrobial Peptides Display Strong Synergy With Vancomycin Against Vancomycin-Resistant *E. faecium*, *S. aureus*, and Wild-Type *E. coli*. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(13): 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms21134578>
- Wu, X., Wyman, I., Zhang, G., Lin, J., Liu, Z., Wang, Y., dan Hu, H. (2016). Preparation of Superamphiphobic Polymer-Based Coatings Via Spray And Dip-Coating Strategies. *Progress in Organic Coatings* 90(1): 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2015.08.008>
- Zhang, J., Elango, J., Wang, S., Hou, C., Miao, M., Li, J., Na, L., dan Wu, W. (2022). Characterization of Immunogenicity Associated with the Biocompatibility of Type I Collagen from Tilapia Fish Skin. *Polymers*. 4(11): 1-14.

- Zhang, M., Zhang, F., Li, C., An, H., Wan, T., & Zhang, P. (2022). Application of Chitosan and Its Derivative Polymers in Clinical Medicine and Agriculture. *Polymers* 14(5): 1-16. <https://doi.org/10.3390/polym14050958>
- Zhou, W., Peng, X., Ma, Y., Hu, Y., Wu, Y., Lan, F., Weir, M. D., Li, M., Ren, B., Oates, T. W., Xu, H. H. K., Zhou, X., dan Cheng, L. (2020). Two-Stage Time-Dependent Materials for The Prevention of Implant-Related Infections. *Acta Biomaterialia*. 101(1): 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.023>

LAMPIRAN

Lampiran I. Surat Ijin Penelitian



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Sekip Utara, Yogyakarta 55281, Indonesia Telp. 081239447900
e-mail: ke.fkg@ugm.ac.id

PERMOHONAN SURAT IZIN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini ketua kelompok Kedaireka Tahun Anggaran 2024 FKG UGM.

Ketua Anggota

Nama : drg. Heribertus Dedy Kusuma Yulianto, M.Biotech., Ph.D.
NIP dan GOL (jika ada) : 19780723 200812 1001/ III d
Bidang Ilmu : Biomedik
Alamat : Celeban Gang Pandu 491 B, Yogyakarta
Telp/HP : 08164267358
Email : dedykusuma@ugm.ac.id

Anggota 1

Nama : Berliana Sekar Ayu
No. Mahasiswa : 21/473823/KG/12330
Program Studi : SI Kedokteran Gigi
Alamat : Perumahan Sendangadi Permai C7, Mlati, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta
Telp/HP : 085172114083
Email : berliana.sekar1403@mail.ugm.ac.id

Anggota 2

Nama : Annisa Zahro Nugroho
No. Mahasiswa : 21/481108/KG/12498
Program Studi : SI Kedokteran Gigi
Alamat : Jl. Pogung Kidul Jl. Pogung Dalangan No.180, Pogung Kidul, Sinduadi, Kec. Mlati, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta
Telp/HP : 082232327997
Email : annisa.zahro.nugroho@mail.ugm.ac.id

Visi FKG UGM sebagai fakultas berkelas dunia yang unggul dan inovatif, mengabdikan kepada kepentingan bangsa, dan kemanusiaan yang dijiwai nilai-nilai budaya dan profesionalisme berdasarkan Pancasila



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Sekip Utara, Yogyakarta 55281, Indonesia Telp. 081239447900
e-mail: ke.fkg@ugm.ac.id

Anggota 3

Nama : Zahrani Wahyuningtyas
No. Mahasiswa : 21/481324/KG/12502
Program Studi : SI Kedokteran Gigi
Alamat : Karangwuni No. B.8, Jalan Kaliurang Km. 5, Caturtunggal, Depok,
Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta
Telp/HP : 085156539229
Email : zahrani.wahyuningtyas@mail.ugm.ac.id

Mengajukan permohonan untuk mendapatkan surat pengantar memperoleh surat permohonan izin penelitian dalam rangka persiapan Kedaireka Tahun Anggaran 2024 FKG UGM dengan judul Efek Modifikasi Permukaan Logam Titanium, Co-Cr, dan Resin Akrilik dengan Teknik Pelepasan Obat Terkontrol (Vankomisin – Kitosan – Kolagen) terhadap Penghambatan Pembentukan Biofilm *Staphylococcus aureus*.

Lokasi Penelitian :

1. Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi UGM
2. Laboratorium Preklinik Fakultas Kedokteran Gigi UGM

Mengetahui

Yogyakarta, 28 Agustus 2024

Pemohon



drg. Heribertus Dedy Kusuma Y.,

M. Biotech., Ph.D.

NIP. 19780723 200812 1001

Lampiran II. Surat Keterangan Kelaikan Etik Penelitian (Ethical Clearance)



KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI-RSGM UGM PROF. SOEDOMO
UNIVERSITAS GADJAH MADA

Sekip Utara, Yogyakarta 55281
Telepon 081228783235, E-mail: ke.fkg@ugm.ac.id

PEMBEBASAN PERSETUJUAN ETIK
EXEMPTION LETTER

Nomor 155/UN1/KEP/FGK-RSGM/EC/2024

Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi – RSGM Prof Soedomo, Universitas Gadjah Mada, telah mengkaji dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

The Ethics Committee of the Faculty of Dentistry – Prof Soedomo Dental Hospital, Universitas Gadjah Mada, has carefully reviewed the proposed research design:

Judul <i>Title of research protocol</i>	: Efek Modifikasi Permukaan Logam Titanium, Co-Cr, dan Resin Akrilik dengan Teknik Pelepasan obat Terkontrol (Vankomisin-Kitosan-Kolagen) terhadap Penghambatan Pembentukan Biofilm <i>Staphylococcus aureus</i>
Peneliti Utama <i>Principal investigator</i>	: drg. Heribertus Dedy Kusuma Yulianto, M.Biotech., Ph.D.
Anggota Penelitian <i>Member of research</i>	: 1. Annisa Zahro Nugroho 2. Berliana Sekar Ayu 3. Zahrani Wahyuningtias
Penanggung Jawab Penelitian <i>Responsible person of research</i>	: drg. Heribertus Dedy Kusuma Yulianto, M.Biotech., Ph.D.
Unit/Lembaga <i>Institution</i>	: Fakultas Kedokteran Gigi UGM
Tempat Penelitian <i>Place of research</i>	: 1. Laboratorium Riset Terpadu FKG UGM 2. Laboratorium Preklinik FKG UGM

Maka dengan ini menyatakan bahwa protokol penelitian tersebut dapat dibebaskan dari keharusan memperoleh persetujuan etik (*Exempted*). Pembebasan ini berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.

Thus declares that this research protocol has been qualified for exemption from review. The exemption letter is valid for one year from the date of approval.

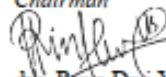
Peneliti wajib mengumpulkan:

The investigator(s) is/are obliged to submit:

- Laporan tahunan untuk penelitian tahun jamak
Annual report for multi-years research
- Laporan akhir setelah penelitian selesai
Final report upon the completion of the study

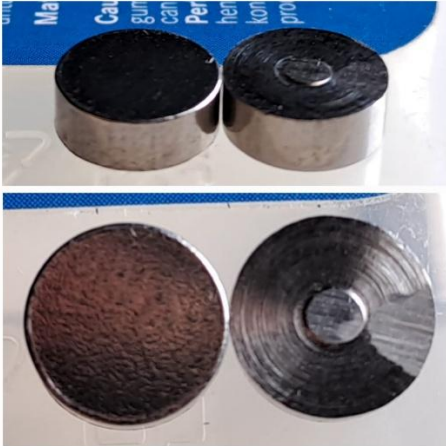

Yogyakarta, 24 Juli 2024

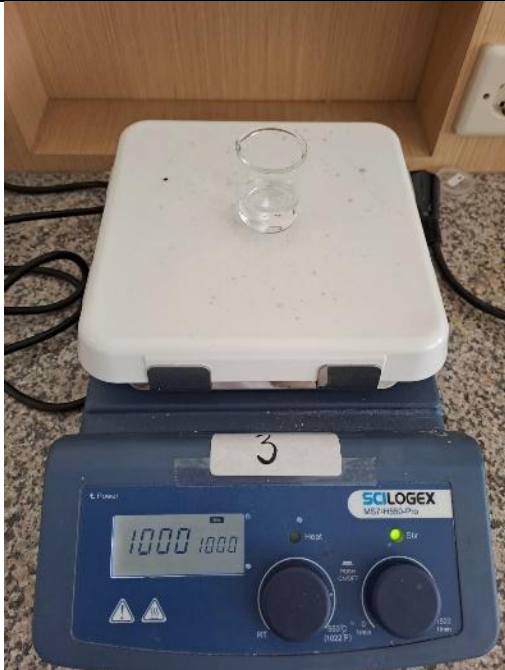


Ketua
Chairman



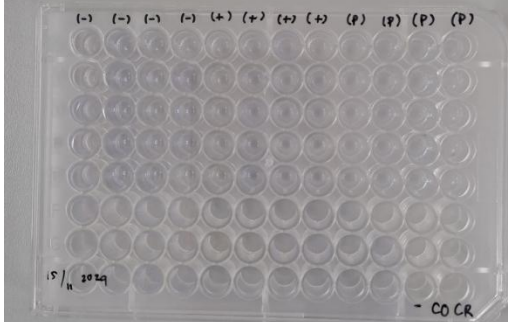


drg. Rynia Dwi Yanuaryska, Ph.D.

Lampiran III. Dokumentasi Penelitian

No.	Gambar	Keterangan
1		Spesimen Aloi CoCr
2		Pengukuran <i>Surface Roughness Tester</i>
3		Sterilisasi dengan autoklaf

4		Formulasi larutan <i>coating</i>
5		Pelapisan permukaan spesimen dengan metode <i>dipping</i>
6		Sterilisasi spesimen dengan sinar UV

7		Pembuatan suspensi bakteri
8		Pembacaan hasil dengan kristal violet dan pembilasan etanol
9		Pembacaan hasil

Lampiran IV. Data Hasil Penelitian

Hasil pengukuran nilai optical density pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*

aureus (dalam OD)

No	Kontrol Negatif				Kontrol Positif				Perlakuan			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0,076	0,066	0,06	0,049	0,045	0,061	0,072	0,047	0,053	0,06	0,055	0,049
2	0,055	0,074	0,062	0,082	0,049	0,063	0,058	0,052	0,057	0,061	0,065	0,05
3	0,064	0,074	0,063	0,066	0,052	0,066	0,06	0,055	0,054	0,063	0,054	0,05
4	0,054	0,079	0,061	0,07	0,049	0,065	0,061	0,051	0,053	0,06	0,061	0,05
5	0,061	0,082	0,069	0,048	0,049	0,065	0,058	0,051	0,054	0,057	0,054	0,05
6	0,068	0,072	0,063	0,072	0,053	0,059	0,057	0,053	0,052	0,055	0,052	0,051
7	0,064	0,07	0,066	0,07	0,053	0,06	0,055	0,053	0,052	0,053	0,052	0,052
8	0,063	0,072	0,065	0,068	0,054	0,062	0,06	0,054	0,054	0,054	0,055	0,052

Lampiran V. Hasil Analisis Statistik

a. Output SPSS Uji Normalitas (*Shapiro-Wilk*)

CoCr		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Biofilm	Negatif	.366	4	.	.775	4	.065
	Positif	.277	4	.	.874	4	.312
	Perlakuan	.215	4	.	.946	4	.689

a. Lilliefors Significance Correction

b. Output SPSS Uji Homogenitas

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Biofilm	Based on Mean	2.659	2	9	.124
	Based on Median	1.217	2	9	.340
	Based on Median and with adjusted df	1.217	2	4.301	.381
	Based on trimmed mean	2.371	2	9	.149

c. Output SPSS Uji One Way ANOVA

ANOVA

Biofilm					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	7.330	.013
Within Groups	.000	9	.000		
Total	.001	11			

d. Output SPSS Uji *Post-Hoc* LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Biofilm

LSD

(I) CoCr	(J) CoCr	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Negatif	Positif	.010000*	.003358	.016	.00240	.01760
	Perlakuan	.012000*	.003358	.006	.00440	.01960
Positif	Negatif	-.010000*	.003358	.016	-.01760	-.00240
	Perlakuan	.002000	.003358	.566	-.00560	.00960
Perlakuan	Negatif	-.012000*	.003358	.006	-.01960	-.00440
	Positif	-.002000	.003358	.566	-.00960	.00560

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran VI. Surat Bebas Tanggungan Administrasi Laboratorium



UNIVERSITAS GADJAH MADA

LABORATORIUM RISET TERPADU FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Gedung DLC Lt. 1 dan 5 Sayap Barat, Jl. Denta No. 1, Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp/faks: +62 274 515307
Website: <http://fkg.ugm.ac.id> E-mail: labrisetfkg@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN **BEBAS TANGGUNGAN ADMINISTRASI LABORATORIUM**

Nama yang tercantum dibawah ini menerangkan bahwa :

Nama : Zahrani Wahyuningtias
NIM : 21/481324/KG/12502
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Telah bebas dari semua tanggungan administrasi laboratorium untuk Penelitian serta telah memenuhi persyaratan untuk mengikuti Yudisium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

Yogyakarta, 09 Desember 2024
Kepala Laboratorium Riset Terpadu FKG UGM

