

**DEGRADASI BIOFILM *Fusobacterium nucleatum*
DAN KUANTITAS ROS AKIBAT KOMBINASI
PHOTODYNAMIC THERAPY DAN NaOCl 2,5%**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh:

**MEIDI KURNIA ARIANI
021918036307**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

DEGRADASI BIOFILM *Fusobacterium nucleatum* DAN KUANTITAS ROS AKIBAT KOMBINASI *PHOTODYNAMIC THERAPY* DAN NaOCl 2,5%

KARYA TULIS AKHIR

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Program Studi Ilmu Konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
Surabaya

Oleh:

Meidi Kurnia Ariani
NIM : 021918036307

Menyetujui:

Pembimbing Utama



Nanik Zubaidah, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP. 195812071988032001

Pembimbing Serta



Dr. Sukaton, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP. 195908011987011001

Mengetahui
Ketua Program Studi



Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP. 197106261999031001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENETAPAN PANITIA
PENGUJI KARYA TULIS AKHIR**

Karya tulis akhir ini telah diuji pada:

Hari : Senin

Tanggal : 13 Juni 2022

PANITIA PENGUJI :

Ketua : 1. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K)

Anggota : 2. Dr. Nirawati Pribadi, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K)

3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K)

4. Nanik Zubaidah, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K)

5. Dr. Sukaton, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K)

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Meidi Kurnia Ariani
NIM : 021918036307
Program Studi : Spesialis Ilmu Konservasi Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Spesialis (Sp)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan karya tulis akhir yang berjudul :

DEGRADASI BIOFILM *Fusobacterium nucleatum* DAN KUANTITAS ROS AKIBAT KOMBINASI PHOTODYNAMIC THERAPY DAN NaOCl 2,5%

Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 13 Juni 2022
Yang membuat pernyataan



Meidi Kurnia Ariani
NIM 021918036307

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala Puji Syukur bagi Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Akhir dengan judul **“Degradasi Biofilm *Fusobacterium nucleatum* dan Kuantitas ROS Akibat Kombinasi *Photodynamic Therapy* dan NaOCl 2,5%”**

Karya tulis akhir ini dibuat untuk memenuhi syarat dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT.,Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis akhir pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., SpKG(K) selaku Ketua Departemen Konservasi Gigi yang telah memberikan ijin untuk pembuatan Karya Tulis Akhir
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes, Sp.KG(K) selaku Koordinator Program Studi Departemen Konservasi Gigi yang telah memberi ijin dan motivasi sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan.
5. Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
6. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku mantan Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memfasilitasi dan memberikan ijin di awal hingga berjalannya proses pembuatan karya tulis ini.

7. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes, Sp.KG(K) selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memfasilitasi dan memberikan ijin di awal hingga berjalannya proses pembuatan karya tulis ini
8. Nanik Zubaidah, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K) selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Akhir ini, serta mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pengerjaan, sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Dr. Sukaton, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K) selaku Dosen Pembimbing Serta yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Akhir ini, serta mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pengerjaan, sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
10. Prof. Dr. Sri Kunarti, drg.,MS.,Sp.KG(K) selaku mantan Dosen Pembimbing Utama yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Akhir ini, serta mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pengerjaan sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat terlaksanakan dengan baik.
11. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Ketua Panitia Penguji Karya Tulis Akhir beserta Dr. Nirawati Pribadi, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K) dan Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., SpKG(K) selaku anggota penguji Karya Tulis Akhir yang telah membimbing, memberikan banyak saran serta masukkan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini.
12. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Bagian Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.
13. Eta Radhianto selaku Staff Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.

14. Orang tua tercinta, ayahanda Roedy Budirahardjo, Ibunda Alm. Insyah Budinita, Suami Noven Syahdan Rizaldi yang senantiasa memberikan dukungan doa dan dorongan moril selama pembuatan Karya Tulis Akhir ini.
15. Teman – teman seperjuangan PPDGS Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya angkatan 2019 dan pihak – pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Karya Tulis Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa Karya Tulis Akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat saya harapkan. Semoga Karya Tulis Akhir ini memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 13 Juni 2022

Penulis

ABSTRAK

**DEGRADASI BIOFILM *Fusobacterium nucleatum* DAN
KUANTITAS ROS AKIBAT KOMBINASI *PHOTODYNAMIC
THERAPY* DAN NaOCl 2,5%**

Latar belakang: Persistensi mikroorganisme dalam sistem saluran akar merupakan salah satu penyebab utama kegagalan perawatan saluran akar. Biofilm patogen yang diduga tersembunyi di dalam tubulus dentin dan percabangan saluran akar lainnya dapat membatasi protokol desinfeksi. PDT dapat digunakan sebagai strategi antimikroba yang menggunakan energi laser berdaya rendah untuk mengaktifkan fotosensitizer non-toksik yang menghasilkan oksigen singlet dengan kemampuan membunuh mikroorganisme di saluran akar. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas bakterisidal NaOCl 2,5%, PDT, dan kombinasi PDT dan NaOCl 2,5% terhadap *Fusobacterium nucleatum*. **Metode:** Biofilm mature *Fusobacterium nucleatum* dibagi menjadi empat kelompok sesuai dengan protokol dekontaminasi : K1 (kontrol negatif – biofilm), K2 (NaOCl 2,5%), K3 (PDT), K4 (NaOCl 2,5% + PDT). Pada kelompok 3 dan 4 dilakukan aplikasi TBO dan PDT Fotosan selama 60 detik. Pada degradasi biofilm dilakukan pengamatan OD dengan panjang gelombang 570 nm menggunakan *microplate reader*. Kuantitas ROS dilakukan dengan uji NBT dan pengamatan OD dengan *microplate reader* 540 nm. **Hasil:** Kelompok 4 (NaOCl 2,5% + PDT) memiliki eliminasi bakteri biofilm lebih banyak dibandingkan kelompok lainnya. **Kesimpulan:** Kombinasi PDT dan NaOCl 2,5% dapat dianggap sebagai protokol yang efektif untuk eliminasi *Fusobacterium nucleatum*.

Kata kunci: Terapi fotodinamik, *Sodium hypochlorite*; *Fusobacterium nucleatum*.

ABSTRACT**DEGRADATION OF BIOFILM *Fusobacterium nucleatum* AND
QUANTITY OF ROS DUE TO COMBINATION OF PHOTODYNAMIC
THERAPY AND NaOCl 2.5%**

Background: The persistence of microorganisms in the root canal system is one of the leading causes of root canal treatment failure . Biofilms of putative pathogens hidden inside dentin tubules and other root canal ramifications may limit current disinfection protocols. PDT can be used as an antimicrobial strategy that uses low-power laser energy to activate a non-toxic photosensitizer to produce singlet oxygen with the ability to kill microorganisms in root canals. **Objective :** The aim of this study was to compare the bactericidal efficacy of NaOCl 2,5%, PDT, and combination of PDT and NaOCl 2,5% against *Fusobacterium nucleatum*. **Methods:** Mature biofilm *Fusobacterium nucleatum* divided into four groups according to the protocol of decontamination : K1 (negative control – biofilm), K2 (NaOCl 2,5%), K3 (PDT), K4 (NaOCl 2,5% + PDT). In groups 3 and 4, TBO application and phototherapy Fotosan were applied for 60 seconds. Biofilm degradation, OD was observed with 570 nm using microplate reader. ROS quantity was carried out by NBT test and OD observation with microplate reader 540 nm. **Results:** Group 4 (NaOCl 2,5% + PDT) has more biofilm bacteria elimination than the other groups. **Conclusion:** Combination of PDT and NaOCl 2,5% can be considered an effective protocol for the elimination of *Fusobacterium nucleatum*.

Keywords: Photodynamic therapy; Sodium hypochlorite; *Fusobacterium nucleatum*.

DAFTAR ISI

COVER	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR.....	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.3.1 Tujuan Umum	9
1.3.2 Tujuan Khusus	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	10
1.4.2 Manfaat Praktis	10
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 Biofilm	11
2.2 <i>Fusobacterium nucleatum</i>	15
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi	15
2.2.2 Faktor Virulensi	17
2.2.3 Struktur Permukaan.....	23
2.2.4 Pertumbuhan dan Metabolisme.....	24

2.3 Perawatan Saluran Akar	25
2.4 Sodium hipoklorit (NaOCl).....	27
2.4.1 Kegunaan NaOCl	27
2.4.2 Mekanisme kerja NaOCl.....	27
2.4.3 Konsentrasi NaOCl	29
2.4.4 Toksisitas NaOCl	29
2.5 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	31
2.5.1 Kerusakan Akibat ROS	33
2.6 <i>Photodynamic therapy</i> (PDT)	34
2.6.1 Mekanisme PDT	34
2.6.2 PDT Fotosan	39
2.6.3 Agen <i>Photosensitizer</i> Fotosan.....	39
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	41
3.1 Kerangka Konsep.....	41
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	42
3.3 Hipotesis Penelitian.....	45
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	46
4.1 Jenis Penelitian	46
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	46
4.3 Sampel Penelitian	46
4.4 Jumlah Sampel Penelitian	46
4.5 Variabel Penelitian.....	48
4.5.1 Variabel Bebas	48
4.5.2 Variabel Terikat	48
4.5.3 Variabel Terkendali.....	48
4.6 Definisi Operasional.....	48
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	49
4.7.1 Alat	49
4.7.2 Bahan.....	50
4.8 Prosedur Penelitian.....	51
4.8.1 Pembuatan Biofilm <i>Fusobacterium nucleatum</i>	51

4.8.2 Pengamatan OD Biofilm <i>Fusobacterium nucleatum</i> dengan <i>Microplate Reader</i> dan <i>Crystal Violet</i>	52
4.8.3 Pengamatan OD ROS Menggunakan Uji NBT dengan <i>Microplate Reader</i>	53
4.9 Alur Penelitian	56
4.8 Analisis Data	57
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	58
5.1 Hasil Penelitian	58
5.2 Analisis Data Hasil Penelitian	59
BAB 6 PEMBAHASAN	63
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	75
DAFTAR PUSTAKA	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur pembentuk biofilm	11
Gambar 2.2	Proses formasi biofilm	13
Gambar 2.3	Tahap pembentukan biofilm	15
Gambar 2.4	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	16
Gambar 2.5	Morfologi <i>Fusobacterium nucleatum</i>	17
Gambar 2.6	Perjalanan inflamasi	19
Gambar 2.7	Skema ilustrasi struktur permukaan bakteri gram negatif.....	24
Gambar 2.8	Reaksi saponifikasi.	27
Gambar 2.9	Reaksi netralisasi.....	28
Gambar 2.10	Reaksi kloraminasi	27
Gambar 2.11	Proses sinar PDT menghasilkan ROS dan singlet oksigen	36
Gambar 2.12	Mekanisme PDT dengan TBO	38
Gambar 2.13	PDT Fotosan tip endo d 0,5 mm.....	39
Gambar 2.14	Agen <i>photosensitizer</i> low (yellow)	40
Gambar 3.1	Kerangka Konsep	41
Gambar 4.1	Alur Penelitian	56
Gambar 5.1	Diagram Batang Rerata Degradasi Biofilm dan Kuantitas ROS	62

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Nilai rerata, simpangan baku dan besar sampel degradasi biofilm	58
Tabel 5.2	Hasil uji <i>Independent Sample test</i> degradasi biofilm	59
Tabel 5.3	Degradasi Biofilm <i>Fusobacterium nucleatum</i>	60
Tabel 5.4	Nilai rerata, simpangan baku dan besar sampel kuantitas ROS	60
Tabel 5.5	Hasil uji <i>Tukey HSD test</i> kuantitas ROS	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sertifikat Laik Etik	91
Lampiran 2	Sertifikat Bakteri	92
Lampiran 3	Hasil penelitian	93
Lampiran 4	Analisis Statistik	95
Lampiran 5	Dokumentasi Penelitian	105

DAFTAR SINGKATAN

PDT	:	<i>Photodynamic therapy</i>
IL	:	Interleukin
LPS	:	Lipopolisakarida
TLR	:	<i>Toll-like Receptor</i>
TNF- α	:	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
OMPs	:	<i>Outer Membrane Protein</i>
HSP	:	<i>Heat Shock Proteins</i>
NaOCl	:	<i>Sodium hypochlorite</i>
LED	:	<i>Light Emitting Diode</i>
TBO	:	<i>Toluidine Blue O</i>
MB	:	<i>Methylene Blue</i>
ROS	:	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Ca ²⁺	:	Kalsium
Mg ²⁺	:	Magnesium
K ⁺	:	Kalium
O ₂ ^{•-}	:	Superoksida anion
•OH	:	Hidroksil radikal
H ₂ O ₂	:	Hidrogen peroksida
O ₂	:	Oksigen
¹ O ₂	:	Singlet oksigen
μm	:	Mikrometer
nm	:	Nanometer
mW	:	MilliWatt
J	:	Joule
OD	:	<i>Optical Density</i>

TSB	:	<i>Tryptic Soy Broth</i>
PBS	:	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCR	:	<i>Real-time Polymerase chain Reaction</i>
NBT	:	<i>Nitro Blue Tetrazolium</i>
HCl	:	<i>Hydrochloric acid</i>
DMSO	:	<i>Dimethyl sulfoxide</i>

