



## Pengaruh Minuman Probiotik *Lactobacillus casei Shirota strain* Terhadap Pelepasan Ion Nikel Braket Stainless Steel

Meli Oktafiani<sup>1</sup>, Aria Fransiska<sup>2</sup>, Nelvi Yohana<sup>3</sup>

Korespondensi : Aria Fransiska; email: [ariafransiska@gmail.com](mailto:ariafransiska@gmail.com); Telp: +6285314321571

### Abstract

The stainless steel bracket is the most commonly used fixed orthodontic component in orthodontic treatment. The brackets in the oral cavity for a long time can cause the release of metal ions, one of which is nickel ions. Food and beverages can change the pH of the oral environment, such as probiotic beverages. The probiotic beverage with *Lactobacillus casei shirota* strain has a pH of around 3 – 4,5. Low pH can increase nickel ion release and allow hypersensitivity reactions to occur. The purpose of this study was to determine the effect of *Lactobacillus casei shirota* strain probiotic beverage on the release of nickel ions from stainless steel brackets. This research was a laboratory experimental study with a post-test-only control group design with 10 samples. Each stainless-steel bracket sample was immersed in 50 ml of artificial saliva as a control group and 50 ml of *Lactobacillus casei shirota* strain probiotic beverage as a treatment group. Samples were immersed for 18 hours and 15 minutes in an incubator at 37°C. The release of nickel ions was tested using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy (ICP-AES). The results were analyzed by a parametric Independent t-test. The average release of nickel ions in the treatment group was 9,69 ppm and the control group was 9,22 ppm. Independent t-test showed a significant difference ( $p < 0,05$ ) in the mean of the artificial saliva and the *Lactobacillus casei shirota* strain probiotic beverage. The release of nickel ions from stainless steel bracket in *Lactobacillus casei shirota* strain probiotic beverage was greater than artificial saliva

**Keywords:** probiotic, *Lactobacillus casei shirota* strain, nickel, ion release, stainless steel bracket

**Affiliasi penulis :** 1 Faculty of Dentistry, Universitas Andalas, Padang, Indonesia 2 Departement of Dental Materials, Faculty of Dentistry, Universitas Andalas, Padang, Indonesia 3 Departement of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

### PENDAHULUAN

Maloklusi menurut *World Health Organization* (WHO) adalah kelainan dentofasial yang mengacu pada oklusi abnormal dan atau terganggunya hubungan kraniofasial<sup>1</sup>. Perawatan yang dilakukan untuk mengatasi maloklusi adalah perawatan ortodontik yang dapat memperbaiki fungsi fisik, mencegah rusaknya jaringan, dan mengoreksi estetika<sup>2</sup>. Alat ortodontik terdiri dari peranti lepasan dan peranti cekat. Peranti cekat merupakan pilihan yang paling sering dipakai dan disukai oleh pasien ortodontik<sup>3</sup>. Peranti cekat terdiri dari braket, *archwire*, dan komponen pendukung<sup>4</sup>.

Braket ortodontik merupakan komponen utama yang berfungsi menghantarkan gaya yang diperlukan pada gigi<sup>5</sup>. Waktu pemakaian braket yang lama sekitar dua sampai tiga tahun mengakibatkan braket terkontaminasi oleh zat dari dalam dan luar rongga mulut. Hal ini dapat merusak sifat fisik dan kimia braket sehingga menyebabkan korosi<sup>6</sup>. Ketahanan braket sangat dibutuhkan sehingga dibuat dari berbagai jenis bahan seperti logam, *ceramics*, polimer, atau kombinasinya<sup>7</sup>. *Stainless steel* merupakan bahan braket yang paling sering digunakan<sup>5</sup>. *Stainless steel* disusun oleh unsur-unsur utama, yaitu besi, kromium, dan nikel<sup>8</sup>.



Penggunaan komponen ortodontik dapat menyebabkan pelepasan ion logam di dalam rongga mulut<sup>7</sup>. Kontak yang terjadi terus menerus dengan gigi, gingiva, dan lingkungan rongga mulut menghasilkan degradasi logam sehingga terjadi pelepasan ion yang lebih banyak<sup>9</sup>. Nikel merupakan ion logam yang memiliki kecenderungan tinggi untuk terlepas<sup>10</sup>. Terlepasnya ion nikel dapat masuk ke dalam tubuh dan memberikan dampak yang merugikan<sup>11</sup>. Nikel adalah logam sensitisasi yang kuat sebagai penyebab paling sering dari alergi logam. Pelepasan nikel yang merupakan alergen akan menyebabkan terjadinya reaksi hipersensitivitas berupa dermatitis kontak, sitotoksik, dan mutagenik<sup>7,12,13</sup>. Hipersensitivitas nikel di negara industri terus meningkat dengan total wanita lebih dari 30% dan pria 3 – 8%<sup>14</sup>.

Lingkungan dengan pH rendah merupakan salah satu penyebab terjadinya pelepasan ion nikel di rongga mulut. Perubahan suasana di rongga mulut disebabkan oleh makanan dan minuman yang dikonsumsi sehari-hari, salah satunya adalah minuman probiotik<sup>15</sup>. Probiotik beredar luas di pasaran dalam bentuk minuman kesehatan yang mengandung bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat akan mengubah gula menjadi asam laktat. Produksi asam laktat ini akan mengakibatkan penurunan pH hingga 3 – 4,5, perubahan rasa, dan tekstur. Bakteri asam laktat yang digunakan umumnya adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Minuman probiotik *Lactobacillus* yang paling sering dikonsumsi adalah *Lactobacillus casei shirota strain*<sup>16,17</sup>.

Penelitian yang dilakukan oleh Kuhta dkk tahun 2009 menunjukkan pH rendah akan mengurangi resistensi paduan terhadap korosi<sup>18</sup>. Penelitian lain dilakukan oleh Sumule dkk tahun 2015 menunjukkan bahwa kelompok yang direndam dalam minuman berkarbonasi terjadi pelepasan ion nikel dan kromium yang lebih besar dari kelompok kontrol<sup>5</sup>. Berdasarkan landasan teori, data, dan adanya penelitian terdahulu sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* terhadap pelepasan ion nikel braket *stainless steel*.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan *post-test only control group design*. Penelitian ini berlangsung dari Mei – Juli 2022 di dua tempat, yaitu Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan Laboratorium Air Fakultas Teknik Universitas Andalas. Prosedur penelitian diawali dengan perendaman sampel dan dilanjutkan dengan pengukuran ion nikel yang terlepas dalam larutan perendaman.

Sampel yang digunakan adalah satu set braket *stainless steel* yang terdiri dari 10 buah braket rahang atas dan 10 buah braket rahang bawah. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan masing-masing menggunakan 5 set sampel braket *stainless steel*. Sampel pada kelompok kontrol masing-masing direndam dalam 50 ml saliva buatan dan kelompok perlakuan direndam dalam 50 ml minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain*. Waktu perendaman sampel adalah 18 jam 15 menit yang diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37°C. Sampel braket kemudian dipisahkan dari larutan perendaman setelah waktu yang ditentukan. Uji pelepasan ion nikel pada larutan perendaman dilakukan menggunakan ICP-AES. Data yang diperoleh dari uji pelepasan ion nikel kemudian dikumpulkan dan dilakukan uji statistik.



## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelepasan ion nikel pada kelompok minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* lebih besar dibandingkan kelompok saliva buatan. Nilai pelepasan ion nikel rata-rata pada kelompok saliva buatan adalah 9,22 ppm, sedangkan pada kelompok minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* adalah 9,69 ppm seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Distribusi rata-rata pelepasan ion nikel braket stainless steel setelah direndam saliva buatan dan minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain*

Kelompok	n	Rata-rata ± SD (ppm)	Minimum (ppm)	Maksimum (ppm)
Kontrol – Saliva Buatan	5	9,22 ± 0,06	9,14	9,51
Perlakuan – Minuman Probiotik <i>Lactobacillus casei shirota strain</i>	5	9,69 ± 0,17	9,32	9,94

Uji normalitas data *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data menunjukkan nilai signifikansi > 0,05 sehingga data penelitian berdistribusi normal dan homogen sebagai pemenuhan syarat untuk dilakukan uji parametrik *Independent t-test*. Hasil *Independent t-test* pada Tabel 2 didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna rata-rata pelepasan ion nikel braket *stainless steel* antara kelompok kontrol saliva buatan dan kelompok perlakuan minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain*.

**Tabel 2.** Independent t-test pelepasan ion nikel braket stainless steel setelah direndam saliva buatan dan minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain*

Kelompok	n	Rata-rata ± SD (ppm)	Nilai p
Kontrol – Saliva Buatan	5	9,22 ± 0,06	0,000*
Perlakuan – Minuman Probiotik <i>Lactobacillus casei shirota strain</i>	5	9,69 ± 0,17	

$P < 0,05$ , signifikan

Pelepasan ion nikel terjadi pada kedua kelompok disebabkan oleh komponen-komponen yang terkandung dalam saliva buatan dan minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain*<sup>5,15</sup>. Saliva buatan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai kelompok kontrol menghasilkan pelepasan ion nikel setelah dilakukan pengujian. Saliva sebagian besar mengandung air, komponen organik, dan anorganik. Komponen organiknya adalah protein yang berupa enzim dan komponen anorganik berupa bikarbonat, fosfat, natrium, kalium, potassium, klorida, dan magnesium. Adanya komponen anorganik sebagai media elektrolit memicu terjadinya reaksi elektrokimia. Reaksi elektrokimia merupakan reaksi yang terjadi pada ion logam sebagai anoda yang mengalami oksidasi dan media elektrolit sebagai katoda yang mengalami reduksi. Reduksi yang tinggi akan meningkatkan oksidasi pada ion logam sehingga mempercepat proses korosi dan merusak



lapisan pada permukaan logam. Hal ini menyebabkan pelepasan ion nikel braket *stainless steel* dalam saliva buatan<sup>19,20</sup>.

Pelepasan ion nikel pada saliva buatan ini sejalan dengan penelitian oleh Minanga (2016) menggunakan saliva buatan dengan pH 6,8 sebagai kelompok kontrol pada perendaman braket *stainless steel* selama 12 jam. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Siwy (2015) yang melakukan uji pelepasan ion nikel pada beberapa merek braket *stainless steel* menunjukkan bahwa terdapat pelepasan ion nikel pada tiap sampel braket merek yang berbeda<sup>21,22</sup>.

Pelepasan ion nikel juga terjadi pada kelompok minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* yang memiliki pH rendah. Rendahnya pH pada minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* disebabkan oleh bakteri asam laktat yang terkandung di dalamnya. Bakteri asam laktat akan menghasilkan asam laktat ( $C_3H_6O_3$ ) yang memiliki konsentrasi  $H^+$  lebih tinggi dan mengalami reduksi. Hal ini bersifat korosif bereaksi dengan logam dari braket *stainless steel* yang mengalami oksidasi. Proses korosi akan terjadi yang ditandai dengan pelepasan ion nikel dari braket *stainless steel*<sup>5,20</sup>.

Proses korosi terjadi melalui adanya oksidasi logam Ni dan reduksi  $H^+$ . Atom logam akan melepaskan elektron dan menjadi ion bermuatan positif. Elektron yang dilepaskan oleh atom logam sebagai hasil oksidasi kemudian ditransfer kepada ion  $H^+$  yang mengalami reduksi. Ketika logam berada pada lingkungan asam dengan konsentrasi ion  $H^+$  tinggi, maka ion  $H^+$  yang akan mengalami reduksi juga semakin tinggi. Laju oksidasi akan sebanding dengan laju reduksi yang ditandai dengan meningkatnya pelepasan ion<sup>20,23</sup>.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian oleh Pakpahan (2018) yang melakukan perendaman braket *stainless steel* dalam larutan yang memiliki pH rendah  $\pm 2,7$ , yaitu lemon. Penelitian lainnya dilakukan oleh Wasono (2016) yang menguji pelepasan ion nikel dalam minuman isotonik. pH yang rendah sekitar 2,4 – 4,5 pada minuman isotonik terjadi karena adanya asam sitrat yang mengakibatkan terjadinya pelepasan ion nikel<sup>20,24</sup>.

Perendaman dilakukan menggunakan minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* dengan pH 3,8 dan saliva buatan dengan pH 6,8. Data hasil penelitian menunjukkan pelepasan ion nikel braket *stainless steel* lebih besar terjadi pada minuman probiotik yang memiliki pH lebih rendah daripada saliva buatan. Permukaan braket *stainless steel* memiliki lapisan pasif yang berguna untuk melindungi braket dari proses korosi dalam rongga mulut. Kerusakan yang terjadi pada lapisan pasif akan menyebabkan pelepasan ion nikel. pH yang rendah merupakan faktor penyebab rusaknya lapisan pasif tersebut. Keasaman yang terjadi akan merusak dan mengurangi stabilitas lapisan pasif pada braket sehingga ketahanan terhadap korosi berkurang ditandai dengan mudahnya pelepasan ion nikel<sup>25,26,27</sup>.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Sumule (2015) pada braket *stainless steel* yang direndam dalam minuman berkarbonasi sebagai kelompok perlakuan dan saliva buatan sebagai kelompok kontrol. Pemeriksaan kelompok perlakuan menunjukkan adanya pelepasan ion nikel yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Nilai pelepasan ion nikel yang lebih besar terjadi akibat rendahnya pH karena kandungan asam karbonat ( $H_2CO_3$ ) yang meningkatkan konsentrasi ion  $H^+$ <sup>5</sup>.



## ANDALAS DENTAL JOURNAL

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas

Jalan Perintis Kemerdekaan No. 77 Padang, Sumatera Barat

Web: [adj.fkg.unand.ac.id](http://adj.fkg.unand.ac.id) Email: [adj@dent.unand.ac.id](mailto:adj@dent.unand.ac.id)

Nikel merupakan bahan utama dari material ortodontik yang apabila terlepas dan masuk ke dalam tubuh dapat membahayakan kesehatan. Nikel akan memberikan pengaruh terhadap aspek biologis dari mukosa oral, seperti hipersensitivitas, dermatitis, dan sitotoksik<sup>28,29</sup>. Penelitian-penelitian sebelumnya membahas mengenai reaksi alergi akibat pelepasan ion logam dan menunjukkan bahwa jumlah ion yang dilepaskan berada dibawah batas asupan logam nikel. Namun, kondisi non toksik ini masih dapat mempengaruhi aspek biologis sel mukosa mulut. Batas aman asupan rata-rata harian logam nikel melalui makanan adalah 200 – 300 µg. Berdasarkan data penelitian ini, nilai rata-rata pelepasan ion nikel masih jauh lebih rendah dari batas aman asupan harian nikel. Nilai pelepasan ion nikel pada kelompok saliva buatan sebanyak 9,22 ppm, sehingga rata-rata hariannya adalah 8,42 µg/L. Nilai pelepasan ion nikel pada kelompok minuman probiotik *Lactobacillus casei Shirota strain* sebanyak 9,69 ppm, sehingga rata-rata hariannya adalah 8,85 µg/L. Jumlah ion yang terlepas tetap harus diperhatikan sesuai dengan jumlah yang dapat ditoleransi oleh tubuh<sup>29,30,31</sup>.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pelepasan ion nikel braket *stainless steel* yang direndam dalam minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan yang direndam dalam saliva buatan. Rata-rata pelepasan ion nikel pada saliva buatan sebagai kelompok kontrol adalah 9,22 ppm, sedangkan pada minuman probiotik *Lactobacillus casei shirota strain* sebagai kelompok perlakuan adalah 9,69 ppm. Nilai yang diperoleh masih berada di bawah batas aman asupan harian nikel.

### KEPUSTAKAAN

1. Zou J, Meng M, Law CS, Rao Y, Zhou X. Common Dental Diseases in Children and Malocclusion. *Int J Oral Sci* [Internet]. 2018;10(1):1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41368-018-0012-3>
2. Chauhan D, Chauhan T, Gupta K, Sachdev V. A Study of Malocclusion and Orthodontic Treatment Needs According to Dental Aesthetic Index among School Children of a Hilly State of India. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2013;3(1):32.
3. Chitra P, Prashantha GS, Rao A. Effect of Fluoride Agents on Surface Characteristics of NiTi Wires. An Ex vivo Investigation. *J Oral Biol Craniofac Res* [Internet]. 2020;10(4):435–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2020.07.006>
4. Cobourne MT, DiBiase AT. *Hanbook of Orthodontics*. British: Elsevier Limited; 2010. 9 p.
5. Sumule I, Anindita PS, Waworuntu OA. Pelepasan Ion Nikel dan Kromium Braket Stainless Steel yang Direndam Dalam Minuman Berkarbonasi. *e-GIGI*. 2015;3(2):1–6.
6. Deriaty T, Nasution I, Yusuf M. Nickel Ion Release from Stainless Steel Brackets in Chlorhexidine and Piper betle Linn Mouthwash. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2018;51(1):5.



7. Loyola-Rodríguez JP, Lastra-Corso I, García-Cortés JO, Loyola-Leyva A, Domínguez-Pérez RA, Avila-Arizmendi D, et al. In Vitro Determination of Genotoxicity Induced by Brackets Alloys in Cultures of Human Gingival Fibroblasts. *J Toxicol.* 2020; 2020:1–6.
8. Behroozi Z, Momeni Danaei S, Sardarian AR, Moshkelghosha V, Sardarian AR. Evaluation of the Corrosion of Five Different Bracket-Archwire Combination: An In-vitro Analysis Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Dentistry (Shiraz University of Medical Sciences).* 2016;17(3):262–7.
9. Wendl B, Wiltsche H, Lankmayr E, Winsauer H, Walter A, Muchitsch A, et al. Metal Release Profiles of Orthodontic Bands, Brackets, and Wires: an In Vitro Study. *Journal of Orofacial Orthopedics.* 2017;78(6):494–503.
10. Hasyim HS, Devi AP LS, Sumono A. Pengaruh Perendaman Kawat Nikel-Titanium Termal Ortodonti dalam Minuman Teh Kemasan terhadap Gaya Defleksi Kawat. *e-Journal Pustaka Kesehatan.* 2016;4(2):375–80.
11. Rasyid NI, Pudyani PS, Heryumani J. Pelepasan Ion Nikel dan Kromium Kawat Australia dan Stainless Steel dalam Saliva Buatan. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi).* 2014 Sep 1;47(3):168.
12. Chakravarthi S, Chitharanjan A, Padmanabhan S. Allergy and Orthodontics. *J Orthod Sci.* 2012;1(4):83.
13. Shruthi DP, Patil GS, Prithviraj DR. Comparative Evaluation of Ion Release in Bonded and Nonbonded Stainless Steel Brackets with Use of Different Mouthwashes: An In vitro Study. *Contemp Clin Dent.* 2020;11(1):15–9.
14. Gölz L, Knickenberg AC, Keilig L, Reimann S, Papageorgiou SN, Jäger A, et al. Nickel Ion Concentrations in the Saliva of Patients Treated with Self-ligating Fixed Appliances: A Prospective Cohort Study. *Journal of Orofacial Orthopedics.* 2016;77(2):85–93.
15. Peniasi, Wibowo D, Kurniawan FKD. Efek Perendaman Minuman Probiotik Terhadap Daya Lenting Kawat Ortodontik Lepas Stainless Steel. *Dentin Jurnal Kedokteran Gigi.* 2018; II (1):103–7.
16. Soeharsono, Adriani L, Safitri R, Sjojfan O, Abdullah S, Rostika R, et al. Probiotik. *Basis Ilmiah, Aplikasi, dan Aspek Praktis.* Soeharsono, editor. Bandung: Widya Padjadjaran; 2010. 17–23, 92–93 p.
17. Saragih J, Muttaqin Z, Hadi L. Perbedaan Efek Minuman Berkarbonasi dengan Minuman Probiotik terhadap Perubahan Gaya Z-Spring. *Jurnal Farmasi Medistra (Jfm).* 2021;3(2):86–92.
18. Kuhta M, Pavlin D, Slaj M, Varga S, Lapter-Varga M, Slaj M. Type of Archwire and Level of Acidity: Effects on The Release of Metal Ions from Orthodontic Appliances. *Angle Orthodontist.* 2009;79(1):102–10.
19. Bonde MM, Anindita PS. Uji Pelepasan Ion Logam Nikel (Ni) Dan Kromium (Cr) Kawat Ortodontik Stainless Steel Yang Direndam Dalam Air Kelapa. *Pharmacon.* 2016;5(4):40–5.



## ANDALAS DENTAL JOURNAL

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas

Jalan Perintis Kemerdekaan No. 77 Padang, Sumatera Barat

Web: [adj.fkg.unand.ac.id](http://adj.fkg.unand.ac.id) Email: [adj@dent.unand.ac.id](mailto:adj@dent.unand.ac.id)

20. Wasono NP, Assa YA, Anindita PS. Pelepasan Ion Nikel dan Kromium Braket Stainless Steel yang Direndam dalam Minuman Isotonik. *Jurnal Ilmiah Farmasi - UNSRAT*. 2016;5(1).
21. Minanga MA, Anindita PS. Pelepasan Ion Nikel dan Kromium Braket Ortodontik Stainless Steel yang Direndam Dalam Obat Kumur. *Pharmacon*. 2016;5(1):135–41.
22. Siwy CJ, Tendean LEN, Anindita PS. Uji Pelepasan Logam Kromium (Cr) dan Nikel (Ni) Beberapa Merek Braket Stainless Steel dalam Cairan Saliva Artifisial. *e-GIGI*. 2015;3(2):1–5.
23. Callister WD, Rethwisch DG. *Fundamental of Materials Science and Engineering: An Integrated Approach*. 3rd ed. *アジア経済*. New York: John Wilwy & Sons, Inc; 2008. 660–690 p.
24. Pakpahan EL. Pengaruh Lemon terhadap Pelepasan Ion Nikel dan Kromium Braket Ortodonti Stainless Steel. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi*. 2018;14(2):46.
25. Lubis HF, Harahap KI, Lubis NT. Differences in Nickel Ions Released from Nickel-titanium Arch Wire after Immersion in Detergent and Non-detergent Toothpaste. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2020;6(2):77.
26. Karlina I, Amtha R, Roeslan BO, Zen Y. The Release of Total Metal Ion and Genotoxicity of Stainless-Steel Brackets: Experimental Study Using Micronucleus Assay. *The Indonesian Biomedical Journal*. 2016;8(2):97.
27. McCabe JF, Walls AWG. *Applied Dental Materials*. 9th ed. Blackwell Publishing Ltd; 2008. 118–125 p.
28. Heravi F, Abbaszadegan MR, Merati M, Hasanzadeh N, Dadkhah E, Ahrari F. DNA Damage in oral mucosa cells of Patients with Fixed Orthodontic Appliances. *J Dent (Tehran)*. 2013;10(6):494–500.
29. Roeswahjuni N, Fitriani D, Wardiananti AD. The Efficacy Of Green Tea (*Camellia sinensis*) Leaves Extract As Corrosion Inhibitor For Orthodontics Stainless steel wire (Research report). *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2019; IV (1): 77–82.
30. Fernández-Miñano E, Ortiz C, Vicente A, Calvo JL, Ortiz AJ. Metallic Ion Content and Damage to The DNA in Oral Mucosa Cells of Children with Fixed Orthodontic Appliances. *BioMetals*. 2011;24(5):935–41.
31. Parashar S, Maurya R, Gupta A, Hegde C, Anand N. Estimation of Release of Nickel and Chromium by Indian Made Orthodontic Appliance in Saliva. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015; 9(9): ZC75–9.