

Characterization and Anti-Bacterial Activity Testing of Nano Hydroxyapatite-Clove (*Eugenia Caryophyllus*) Against *Streptococcus Mutans* Bacteria

Achmad Fitriadi Akbar, Sari Edi Cahyaningrum✉

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya
Gedung C5-C6 Kampus Ketintang, Ketintang, Surabaya, 60231, Indonesia

Info Artikel

Diterima November 2021

Disetujui Desember 2021

Dipublikasikan Mei 2022

Keywords:

Anti-bacteria
Nano hydroxyapatite-Cloves
Streptococcus Mutans

Abstrak

Hidroksiapatit merupakan salah satu material sebagai sumber kalsium dan fosfat pada proses remineralisasi gigi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hidroksiapatit menghasilkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri penyebab karies. Karies gigi merupakan salah satu kerusakan gigi yang diderita oleh banyak orang. Karies gigi disebabkan oleh *Streptococcus mutans*. Selain hidroksiapatit, minyak esensial yang berasal dari cengkeh juga memiliki fungsi antimikrobal yang baik. Kandungan eugenol dalam cengkeh mampu membunuh bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik secara fisikokimia dan menguji sifat anti bakteri *Streptococcus mutans* pada formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh. Penelitian ini menggunakan material nano hidroksiapatit-cengkeh dengan variasi komposisi minyak cengkeh sebesar 0,5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL dan 4 mL, Hidroksiapatit 1%, Tween dan propilen glikol. Hasil karakterisasi FT-IR menunjukkan munculnya gugus fungsi -OH, C-H, C-O, C=O, PO₄³⁻, dan CO₃²⁻ pada sampel nano hidroksiapatit-cengkeh. Pada pengujian PSA, ukuran partikel terkecil ditunjukkan variasi komposisi minyak cengkeh 1 mL yaitu 16,07 nm. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan data terdistribusi normal ($p=0,05$) dan menghasilkan probabilitas signifikan ,000 ($p<0,05$).

Abstract

Hydroxyapatite is one of the materials as a source of calcium and phosphate in the tooth remineralization process. Several studies have shown that hydroxyapatite produces strong antibacterial activity against caries-causing bacteria. Dental caries are one of the tooth scrapings suffered by many people. Dental caries are caused by *Streptococcus mutans*. In addition to hydroxyapatite, essential oil derived from cloves also has a good antimicrobial function. The eugenol content in cloves can kill bacteria that are resistant to antibiotics. This study aims to determine the results of the physicochemical characterization and antibacterial test of *Streptococcus mutans* in the clove-hydroxyapatite nanoformulation. This study used a nano-hydroxyapatite-clove test material with various compositions of 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, and 4 mL of clove oil, 1% hydroxyapatite, Tween, and propylene glycol. The results of FT-IR characterization showed OH, C-H, C-O, C=O, PO₄³⁻, and CO₃²⁻ functional groups. In PSA testing, the smallest size is indicated by the variation in the composition of 1ml clove oil, which is 16.07nm. The measurement of the antibacterial activity test showed that the hydroxyapatite-clove nanoformulation was able to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria, with normally distributed data ($p=0,05$) and produce a significant probability,000 ($p<0,05$).

Pendahuluan

Membersihkan rongga mulut dapat dikatakan sebagai salah satu faktor yang mampu mempengaruhi kualitas hidup seseorang (Notoharjo & Ghani, 2015). Pada tahun 2012, *World Health Organisation* (WHO) menyatakan karies menyerang 60-90% anak-anak yang masih sekolah serta mencapai 100% pada orang dewasa yang mengakibatkan rasa sakit (World Health Organisation, 2012), sedangkan di Indonesia prevalensi karies mencapai 90,05%, hal tersebut dapat dinyatakan lebih tinggi jika melihat negara berkembang lainnya (Fatmawati, 2011). Karies gigi dinyatakan sebagai masalah besar di daerah kurang mampu, sehingga proteksi terhadap perawatan gigi sangat kecil. Tetapi dalam kurun waktu beberapa dekade terakhir, prevalensi dan keparahan karies gigi jauh berkurang (Dhuangtip, *et al.*, 2016).

Karies gigi adalah masalah kronis yang berkembang lambat pada kebanyakan orang. Tanda-tanda demineralisasi karies terlihat pada jaringan keras gigi, namun mekanisme pembentukan di mulai pada biofilm mikroba yang menyelimuti bidang gigi. Selain itu, perubahan awal pada enamel tidak terdeteksi dengan metode klinis dan radiografi tradisional. Pada awalnya karies bersifat reversibel, dimana mampu dihentikan dalam setiap tahapan, terlebih pada jaringan keras yang rusak (kavitasi), apabila cukup biofilm yang dapat dihilangkan (Selwitz, *et al.*, 2007). Konsumsi berulang dari karbohidrat yang mudah di fermentasi, terutama sukrosa, menyebabkan pertumbuhan berlebih dari bakteri kariogenik seperti *S.mutans* (Frencken, *et al.*, 2012). Karies terbentuk karena adanya aktivitas bakteri pada rongga mulut diantaranya *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* dan *Nocardia sp* (Wadu, *et al.*, 2018). Dalam rongga mulut terdapat bakteri yang paling dominan yaitu bakteri *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* ialah bakteri penyebab utama timbulnya karies gigi (Sabir, 2005).

Bakteri *Streptococcus mutans* bersifat kariogenik yang dapat menyusun asam yang dihasilkan dari fermentasi karbohidrat secara cepat. *Streptococcus mutans* mampu berkembang biak pada kondisi asam serta mampu melekat di bidang gigi, lantaran memiliki kemampuan membentuk polisakarida. Pembentukan polisakarida yang berasal dari polimer glukosa mempunyai kemampuan membentuk kerangka plak gigi yang berbentuk sebagaimana gelatin, hal tersebut membantu bakteri untuk melekat pada permukaan gigi (Susi, *et al.*, 2015). Pada dasarnya *Streptococcus mutans* mempunyai kemampuan beradaptasi yang cepat dengan perubahan lingkungan yang tiba-tiba dan substansial dalam plak gigi sehingga menjadi agen etiologi utama karies gigi (Lemos, *et al.*, 2019). Perubahan biofilm meningkatkan potensi kehilangan mineral enamel, produksi asam organik berikutnya, dan perubahan amfibiostatik pada mikroflora rongga mulut yang menyebabkan peningkatan risiko perkembangan lesi karies (Frencken, *et al.*, 2012).

Hidroksiapatit (HAp) dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ tergolong dalam material sintetik yang dapat disintesis menggunakan material tinggi kalsium. Secara umum, hidroksiapatit banyak diteliti untuk kebutuhan pasien yang mengalami fraktura sebagai biomaterial reparasi tulang maupun sebagai agen remineralisasi pengeroposan gigi. Hidroksiapatit disintesis berdasarkan material tinggi kalsium semacam cangkang Mollusca, kulit telur unggas, serta tulang sapi, kambing maupun hewan yang telah dikonsumsi dagingnya. Hidroksiapatit digunakan sebagai bahan aktif pada formulasi pasta gigi, dimana bahan aktif ini diharapkan bekerja *multipel*, yaitu agen antibakteri dan remineralisasi gigi (Wadu, *et al.*, 2018). Hidroksiapatit nantinya akan di sintesis dalam ukuran nano partikel, hal ini karena ukuran partikel yang kecil memfasilitasi penetrasi ke dalam sel bakteri dan memberikan kontak maksimum dengan lingkungan (Zhao, *et al.*, 2020). Sintesis hidroksiapatit tulang sapi dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya metode kalsinasi. Kalsinasi dilakukan untuk menetralkan air dan komponen organik yang terdapat pada tulang sapi hingga menghasilkan produk sintesis berupa hidroksiapatit. Hidroksiapatit yang dihasilkan memiliki rendemen yang lebih tinggi. Terdapat beberapa keunggulan dalam metode kalsinasi yaitu, dapat mengurai senyawa organik pada tulang secara termal dan dapat memberikan faktor keamanan biologis yang tinggi dengan menghilangkan setiap tanda genom penyakit (Afifah & Cahyaningrum, 2020). Dari penelitian hidroksiapatit tulang sapi yang telah dilakukan sebelum ini, terdapat hasil FT-IR dan XRD yang menampilkan hubungan temperatur kalsinasi pada tulang sapi tidak mampu mengangkut transformasi fase sekunder (Khoo, *et al.*, 2015). Hasil penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, memperlihatkan hidroksiapatit mampu menghasilkan aktivitas antibakteri relatif tinggi pada salah satu bakteri pembentuk karies yaitu *Lactobacillus acidophilus* (Wadu, *et al.*, 2018).

Minyak cengkeh termasuk dalam agen antimikrobal yang mampu melawan bakteri oral yang pada umumnya menjadi sumber penyakit karies gigi dan periodontal (Andries, *et al.*, 2014). Cengkeh (*Eugenia caryophyllus*) merupakan salah satu rempah-rempah berharga yang telah digunakan berabad-abad sebagai pengawet makanan dan bagi banyak orang tujuan pengobatan (Tiwari, *et al.*, 2018).

Cengkeh dapat ditemukan hidup di Indonesia, Srilanka, dan India. Cengkeh dianggap sebagai material herbal alami sebagai antimikroba yang efektif dan berpengaruh. Minyak esensial cengkeh memiliki antibakteri yang baik, antijamur, antioksidan, analgesik, anestesi, dan aktivitas insektisida (Hameed, *et al.*,

2021). Minyak cengkeh mengandung eugenol (sekitar 70-90%), eugenol asetat (2-17%) dan caryophyllene sebagai konstituen utamanya mempengaruhi berbagai efek terapeutik (Misar, *et al.*, 2020).

Eugenol merupakan salah satu senyawa aromatik, berbau, biasa tersebar pada biji cengkeh, sukar tercampur dengan air namun akan larut pada pelarut organik. Cengkeh menghasilkan minyak atsiri sekitar 14-21% dimana komponen utamanya 95% ialah eugenol (Andries, *et al.*, 2014). Kandungan eugenol yang tinggi dalam minyak esensial cengkeh sebagai sumber untuk aktivitas antimikroba yang kuat (Misar, *et al.*, 2020). FDA telah mengkategorikan minyak cengkeh sebagai bahan yang aman. Namun, mematkan bila diminum melalui dosis oral 3,75 g/kg berat tubuh (Hameed, *et al.*, 2021).

Metode

Alat dan Bahan

Alat yang dipakai dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, inkubator, neraca analitik 4 digit, spatula, gelas kimia, gelas ukur, kaca arloji, pipet tetes, oven, tanur, Instrumen FT-IR, Instrumen PSA, thermometer, *magnetic stirrer*, Spin bar, mortar alu, ayakan 100 mesh, petridish, pipet volume, *stopwatch*, dan aluminum foil. Bahan yang dipakai pada penelitian ini yaitu aquadem, aquades, H₂O₂, asam asetat, cengkeh, Tween, Hidroksiapatit, Nutrien Agar, media NB, asam fosfat, bakteri *Streptococcus mutans* dan Propilenglikol.

Sintesis Nano Hidroksiapatit-Cengkeh

Pembuatan hidroksiapatit 1% dilakukan dengan mencampurkan 0,2 gram hidroksiapatit dengan 20 mL asam fosfat. Selanjutnya sintesis nano hidroksiapatit-cengkeh dengan memasukkan 4 mL tween ke dalam beaker glass 100 mL. Selanjutnya dilakukan pengadukan memakai *magnetic stirrer* selama 5 menit. Setelah pengadukan, ditambahkan minyak cengkeh dengan variasi 0,5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, dan 4 mL. Setelah itu dilanjutkan pengadukan dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan sonikasi tanpa panas selama 15 menit. Dilanjutkan dengan penambahan hidroksiapatit 1% sebanyak 2 mL. Setelah pencampuran, dilakukan pengadukan memakai *magnetic stirrer* dalam waktu 10 menit. Selanjutnya dilakukan sonikasi tanpa panas selama 10 menit (Gao, *et al.*, 2017). Dihasilkan formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh berupa larutan berwarna putih keruh. Selanjutnya dilakukan karakterisasi FT-IR untuk melihat gugus fungsi dalam formulasi.

Analisis Ukuran Partikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Pengukuran partikel nano hidroksiapatit-cengkeh dilakukan dengan memakai spektra *Particle Size Analyzer* (PSA). Hidroksiapatit-cengkeh ditimbang 0,02g lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades. Kemudian diambil larutan sampel menggunakan pipet dan diletakkan ke dalam tabung dengan tinggi maksimum 15 mm. Pengujian sampel nano hidroksiapatit-cengkeh akan memunculkan hasil yang terbaca pada monitor komputer (Malvern Instruments Limited, 2012).

Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Nano Hidroksiapatit-Cengkeh

Persiapan Alat

Seluruh peralatan yang digunakan untuk prosedur uji aktivitas antibakteri harus melalui tahap sterilisasi. Seluruh peralatan dilakukan sterilisasi sesuai dengan prosedur masing-masing alat. Tabung reaksi, gelas ukur, pipet volume, erlenmeyer akan ditutup menggunakan kapas pada mulutnya, selanjutnya di lapisi menggunakan aluminium foil. Kemudian disterilkan pada oven. Pinset dilakukan sterilisasi dengan menggunakan bunsen dengan metode pemijaran (Afni, *et al.*, 2015). Jarum ose yang dipakai adalah jarum sekali pakai yang sudah steril.

Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Media nutrien agar dibuat dengan menimbang nutrien agar (NA) base sejumlah 2 gram, selanjutnya diletakkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL aquades. Selanjutnya dilakukan pemanasan diatas penangas air hingga media dianggap homogen. Larutan dilakukan sterilisasi pada autoklaf dengan suhu 120°C selama 15 menit. Selanjutnya di diamkan hingga dingin, kemudian dimasukkan ke dalam lemari pendingin. Media akan dipanaskan kembali didalam autoklaf ketika akan digunakan (Afni, *et al.*, 2015).

Persiapan Bakteri

Penelitian ini menggunakan bakteri *Streptococcus mutans* yang didapatkan berdasarkan proses pembiakan. Bakteri diambil menggunakan jarum ose sebanyak 1 ose. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri

Streptococcus mutans yang disuspensi pada media cair nutrien broth (NB). Media cair nutrien broth (NB) dibuat dengan cara memasukkan 0,8 gram nutrien broth (NB) base pada 100 mL aquades. Kekeruhan suspensi harus sesuai dengan standar McFarlandII yaitu 6×10^8 CFU/ml (Dewi, *et al.*, 2015).

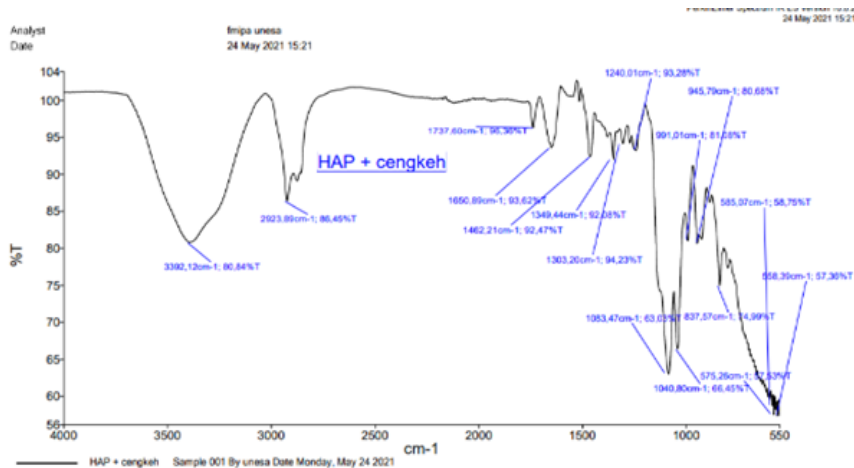
Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Tahap pertama yang dilakukan adalah memanaskan kembali media nutrien agar (NA) steril menggunakan autoklaf dengan temperatur 120°C selama 15 menit. Selanjutnya menyiapkan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang telah diinokulasi pada media nutrien broth (NB). Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* kemudian diambil 1 mL menggunakan pipet volume, selanjutnya dimasukkan ke dalam petridish. Selanjutnya ditambahkan 5 mL media nutrien agar (NA) ke petridish dalam keadaan masih hangat. Kemudian petridish digoyang perlahan agar suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dan media nutrien agar (NA) tercampur homogen. Langkah selanjutnya, menyiapkan sampel formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh dengan variasi komposisi cengkeh 0,5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, kontrol positif dan kontrol negatif. Kemudian blankdish dicelupkan ke dalam sampel yang akan di uji. Selanjutnya masukkan blankdish yang telah dicelupkan sampel sebanyak 3 buah ke dalam petridish yang berisi media nutrien agar (NA) dan bakteri *Streptococcus mutans* yang sudah mulai memadat. Lalu media diinkubasi dalam temperatur 37°C dengan waktu 24 jam. Setelah 24 jam diinkubasi, petridish diambil serta dilakukan pengukuran terhadap zona bening yang terdapat pada setiap blankdish dengan jangka sorong (Sabir, 2005).

Hasil dan Pembahasan

Analisis Gugus Fungsi dengan *Fourier Transformed Infrared* (FT-IR) pada Material Nano Hidroksiapatit-Cengkeh

Pada tahap ini memiliki tujuan untuk melihat karakterisasi secara kimia yaitu mengetahui gugus fungsi pada larutan nano hidroksiapatit-cengkeh dengan FT-IR. FT-IR melakukan analisis secara kualitatif dengan melihat absorbansi pada sinar inframerah. Selain itu, karakterisasi dengan FT-IR memiliki tujuan untuk mengidentifikasi jenis vibrasi ikatan antar atom dalam gugus fungsional tertentu yang akan muncul pada bilangan gelombang $4.000-500\text{ cm}^{-1}$. Hasil karakterisa FT-IR pada larutan nano hidroksiapatit-cengkeh terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Karakterisasi FT-IR Nano Hidroksiapatit-Cengkeh

Gambar 1 menunjukkan spektra FT-IR. Pada spektra FT-IR terlihat gugus yang muncul yaitu gugus OH, C-H, C-O, C=O, PO_4^{3-} , dan CO_3^{2-} . Pada spektra diatas gugus fungsi OH ditunjukkan oleh bilangan gelombang $3392,12\text{ cm}^{-1}$. Spektrum serapan OH biasanya dinyatakan pada bilangan gelombang $3200-3650\text{ cm}^{-1}$ (Hikmah, *et al.*, 2018). Sedangkan gugus C-H ditunjukkan oleh bilangan gelombang $2923,89\text{ cm}^{-1}$ yang diindikasikan sebagai vibrasi ulur C-H sp^3 dan menandakan munculnya senyawa aromatis terkonjugasi pada bilangan gelombang $1463,21\text{ cm}^{-1}$. Gugus C=O terlihat pada spektra di bilangan gelombang $1737,60\text{ cm}^{-1}$ dan $1650,89\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan gugus CO_3^{2-} ditunjukkan pada bilangan gelombang $1349,44\text{ cm}^{-1}$ dan $1303,20\text{ cm}^{-1}$. Pada spektra tersebut, gugus C-O ditunjukkan pada nilai spektra gelombang $1083,47\text{ cm}^{-1}$ dan $1040,80\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan gugus PO_4^{3-} ditunjukkan oleh bilangan gelombang $992,01\text{ cm}^{-1}$, $945,79\text{ cm}^{-1}$, $837,57\text{ cm}^{-1}$, $585,07\text{ cm}^{-1}$

¹, 575,26cm⁻¹, dan 558,39cm⁻¹. Gugus PO₄³⁻ berada kisaran 600-420 cm⁻¹, 990-950 cm⁻¹, 1100-1020 cm⁻¹, dan pada 2200-1990 cm⁻¹ (Ranamanggala, *et al.*, 2020).

Analisis Ukuran Partikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Ukuran partikel merupakan indeks penting untuk menunjukkan keseragaman dan kemampuan sistem emulsi (Xu, *et al.*, 2020). Pada pengujian ukuran partikel dapat dilakukan dengan beberapa teknik, diantaranya adalah instrument *Particle Size Analyzer* (PSA) dengan teknik *laser diffraction*. Teknik ini termasuk dalam pengujian secara kuantitatif untuk melakukan identifikasi ukuran rata-rata suatu partikel, pengukuran dilakukan hingga orde nanometer. Prinsip kerja teknik *laser diffraction* yaitu penghamburan cahaya laser oleh partikel yang terdispersi dan melewati berkas sinar laser. Hasil hamburan yang terdiri atas distribusi dan intensitas hamburan akan melalui analisis secara komputersasi sebagai hasil distribusi ukuran partikel (Panacek, *et al.*, 2006).

Pengujian ini bertujuan menganalisis hasil ukuran partikel memakai Instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA). Setiap sampel dilakukan 5 kali pengujian terhadap setiap sampel. Pada sampel dengan variasi cengkeh 0,5 mL memiliki ukuran partikel rata-rata sebesar 59,64nm. Sedangkan pada sampel dengan variasi cengkeh 1 mL diperoleh ukuran partikel rata-rata sebesar 16,07nm. Selanjutnya sampel dengan variasi cengkeh 2 mL diperoleh rata-rata ukuran partikel sebesar 181,62nm. Sedangkan pada sampel dengan variasi cengkeh 3 mL diperoleh rata-rata ukuran partikel sebesar 370,3nm. Pada sampel dengan variasi cengkeh 4 mL diperoleh rata-rata ukuran partikel sebesar 639,54nm. Perbedaan ukuran rata-rata setiap sampel mengindikasikan bahwa semakin banyak komposisi minyak cengkeh maka semakin besar ukuran partikel. Perubahan ukuran partikel dalam setiap variasi dipengaruhi oleh perbedaan tingkat afinitas, polaritas minyak, komposisi kimia Essensial oil (Xu, *et al.*, 2019), dan dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti waktu penyimpanan (Xu, *et al.*, 2020).

Uji Aktivitas Antibakteri pada Formulasi Nano Hidroksiapatit-Cengkeh

Pengujian aktivitas antibakteri formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh menggunakan metode difusi kertas cakram. Setelah diinkubasi 24 jam dilakukan pengamatan terhadap kertas cakram. Hasil pengamatan difokuskan pada kemunculan zona inhibisi (bening) yang menyatakan bakteri memiliki kepekaan atas sampel yang menjadi material antibakteri. Zona bening pada pengujian dapat dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Kemudian dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong terhadap zona hambat yang terbentuk (Paliling, *et al.*, 2016). Dari hasil pengamatan yang dilakukan, zona hambat yang terbentuk dalam penelitian dapat terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona hambat yang terbentuk

Pada penelitian ini menunjukkan adanya daya hambat nano hidroksiapatit-cengkeh (*Eugenia Caryophyllus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Daya hambat yang muncul ditunjukkan oleh zona bening yang terlihat di sekitar *blankdish* yang sudah di celupkan pada formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh. Pada *blankdish* yang di celupkan hidroksiapatit 1% sebagai kontrol positif, juga menunjukkan kemunculan zona bening. Sedangkan pada *blankdish* yang di celupkan aquades yang dianggap sebagai kontrol negatif, tidak menunjukkan proses pembentukan zona bening. Zona hambat yang telah terbentuk kemudian diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran zona hambat sebagai berikut.

Probabilititas normalitas data memiliki distribusi normal ($p=0,05$), selanjutnya analisis statistik one-way Anova dengan taraf kemaknaan 5% guna memahami perbedaan signifikan antar sampel. Hasil uji Anova dihasilkan probabilitas signifikan ,000 ($p<0,05$), hasil itu menyatakan H_0 ditolak menjadikan sampel memiliki pengaruh yang berbeda diantara lainnya.

Zona hambat yang muncul menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh. Formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh dapat menekan pertumbuhan bakteri berdasarkan sifat antibakteri yang dimiliki hidroksiapatit dan eugenol yang terkandung dalam cengkeh. Eugenol termasuk dalam golongan fenol sehingga mempunyai efek toksik terhadap bakteri. Senyawa

golongan fenol mampu menembus membran sel bakteri sehingga terjadi interaksi dengan enzim dan protein dalam membran yang menyebabkan perbedaan aliran proton sehingga mampu merusak aktivitas sel bakteri (Paliling, *et al.*, 2016). Zona hambat dapat dikategorikan pada diameter zona hambat yang terbentuk, pada rentang dibawah 5 mm dapat dikategorikan rendah, rentang 5-10 dikatakan sedang, 10-20mm dapat dikategorikan kuat dan zona hambat diatas 20mm dikatakan sangat kuat (Lomboan, *et al.*, 2021)

Tabel 1. Pengamatan zona hambat

Sampel	satuan (mm)	satuan (mm)	satuan (mm)	Std. Deviasi
Cengkeh 0,5 ml	15,9	15,3	16,1	0,339934634
Cengkeh 1 ml	12,4	11,9	12	0,21602469
Cengkeh 2 ml	14,1	13,5	14,3	0,339934634
Cengkeh 3 ml	15,6	14,2	13,7	0,804155872
Cengkeh 4 ml	17,6	16,7	17,2	0,368178701
Hidroksiapatit 1% aquades	14,7	11,2	9,1	2,309882152
	0	0	0	0

Dalam prinsip penelitian pengujian toksisitas, besarnya peluang pembentukan zona hambat yang lebih besar dipengaruhi oleh semakin besarnya konsentrasi sampel (Andries, *et al.*, 2014). Pada penelitian Andries, *et al.* (2014), dilakukan pengujian daya hambat bakteri *Streptococcus mutans* menggunakan ekstrak cengkeh dengan variasi konsentrasi cengkeh 40%, 60% dan 80%. Hasil pengujian menunjukkan konsentrasi cengkeh 80% memiliki daya hambat yang makin baik daripada konsentrasi cengkeh 40% dan 60%.

Dari penelitian ini, ketidaksamaan luas zona hambat terlihat berdasarkan perbedaan zona bening yang muncul dalam setiap bahan coba. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena beberapa faktor, yaitu pengaruh besar inokulum, waktu inkubasi, khasiat zat terhadap sifat antibakteri serta perbedaan konsentrasi sampel uji. Semakin besar konsentrasi akan semakin cepat proses difusi yang menyebabkan semakin besar daya antibakteri serta semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, hasil karakterisasi FT-IR pada nano hidroksiapatit-cengkeh menunjukkan gugus fungsi OH, C-H, C-O, C=O, PO₄³⁻, dan CO₃²⁻. Pada pengujian PSA, ukuran partikel terkecil ditunjukkan variasi komposisi minyak cengkeh 1mL yaitu 16,07nm. Pengukuran uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa formulasi nano hidroksiapatit-cengkeh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Daftar Referensi

- Affiah, F. & Cahyaningrum, S. E. 2020. Sintesis Dan Karakterisasi Hidroksiapatit Dari Tulang Sapi (Bos Taurus) Menggunakan Teknik Kalsinasi. *Unesa Journal Of Chemistry*, 9(3): 189-196. doi: 10.26740/ujc.v9n3.p189-196.
- Afni, N., Said, N. & Yuliet. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (Areca Catechu L.) Terhadap Streptococcus Mutans Dan Staphylococcus Aureus. *Galenika Journal Of Pharmacy*, 1(1): 48-58. doi: 10.22487/j24428744.2015.v1.i1.7900.
- Andries, J. R., Gunawan, P. N. & Supit, A. 2014. Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans Secara In Vitro. *Jurnal E-Gigi*, 2(2). doi: 10.35790/eg.2.2.2014.5763.
- Dewi, Z. Y., Nur, A. & Hertriani, T. 2015. Efek Antibakteri Dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Sereh (Cymbopogon Nardus L.) Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 1(2): 136-141. doi: 10.22146/majkedgiind.9120.
- Dhuangtip, D., Chu, C. & Lo, E. 2016. A Randomized Clinical Trial Onarresting Dentine Caries In Preschool Children By Topicalfluorides—18 Month Results. *J. Dent*, 57-63. doi: 10.1016/j.jdent.2015.05.006.
- Fatmawati, D. W. A. 2011. Hubungan Biofilm Streptococcus Mutans Terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. *Stomatognatic (J.K.G Unej)*, 8(3): 127-130.

- Frencken, J. E., Peters, Mathilde C., Manton, David J., Leal, Soraya C., Gordan, Valeria V., & Ece Eden. 2012. Minimal Intervention Dentistry For Managing Dental caries—A Review. *International Dental Journal*, 62: 223-243. doi: 10.1111/idj.12007.
- Hameed, M., Rasul, A., Waqa, M. K., Saadullah, M., Aslam, N., Abbas, G., Latif, S., Afzal, H., Inam, Sana., & Shah P. A. 2021. Formulation And Evaluation Of A Clove Oil-Encapsulated Nanofiber Formulation For Effective Wound-Healing. *Molecules*, 26: 2491. doi: 10.3390/molecules26092491.
- Hikmah, S. A., Rahim, E. A. & Musafira, 2018. Sintesis Dan Karakteristik Polieugenol Dari Eugenol Menggunakan Katalis $H_2SO_4-CH_3COOH$. *Kovalen*, 4(3): 285-296. doi: 10.22487/kovalen.2018.v4.i3.11855.
- Gao, Hongfang., Hui, Y. & Chuang, W., 2017. Controllable Preparation And Mechanism Of Nano-Silver Mediated By The Microemulsion System Of The Clove Oil. *Result In Physic*, 7: 3130-3136. doi: 10.1016/j.rinp.2017.08.032.
- Khoo, W., Nor, F. M., Ardhyanta & Kurniawan, D., 2015. Preparation Of Natural Hydroxyapatite From Bovine Femur Bones Using Calcination At Various Temperatures. *Procedia Manufacturing*, 2: 196-201. doi: 10.1016/j.promfg.2015.07.034.
- Lemos, J. A., S. R. Palmer., L. Zeng., Z. T. Wen., J. K. Kajfasz., I. A. Freires., J. Abranches., & L. J. Brady., 2019. The Biology Of Streptococcus Mutans. *Gram-Positive Pathogen*, 435-448. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018.
- Lomboan, E. R., Yamlean, P. V. Y. & Suoth, E. J., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Pharmakon*, 10(1): 767-773. doi: 10.35799/pha.10.2021.32784.
- Malvern Instruments Limited, 2012. *A Basic Guide To Particle Characterization*, Usa: Malvern Instruments Limited;
- Misar, K. S., Kulkarni, S. B. & Gurmule, W. B., 2020. *Formulation And Evaluation Of Antiacne Cream By Using Clove Oil*. S.L., Materials Today: Proceedings. doi: 10.1016/j.matpr.2020.06.106.
- Notoharjo, I. T. & Ghani, L., 2015. Pemeriksaan Karies Gigi Pada Beberapa Kelompok Usia Oleh Petugas Dengan Latar Belakang Berbeda Di Provinsi Kalimantan Barat. *Buletin Penelitian*, 43(4): 257-264. doi : 10.22435/bpk.v43i4.4601.257-264.
- Paliling, A., Posangi, J. & Anindita, P. S., 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap Bakteri *Porphyromonas Gingivalis*. *Jurnal E-Gigi*, 4(2): 229-234. doi: 10.35790/eg.4.2.2016.14159.
- Panacek, A., Kvitek, L., Pucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V. K., Navecna, T., & Zboril, R. 2006. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, And Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. B*, 110(33): 16248-16253. doi: 10.1021/jp063826h.
- Ranamanggala, J. A., Nurlaili, D. I. & Annisa, Y. N., 2020. Potensi Hidroksiapatit Dari Tulang Ayam Sebagai Pelapis Implan Gigi. *Jurnal Kimia Riset*, 5(2): 141-150. doi: 10.20473/jkr.v5i2.22479.
- Sabir, A., 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona Sp* Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* (In Vitro). *Dental Journal*, 38(3): 135-141. doi: 10.20473/j.djmk.v38.i3.
- Selwitz, R. H., Ismail, A. I. & Pitts, N. P., 2007. Dental Caries. *Lancet*, 369: 51-59. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60031-2.
- Susi, Bachtiar, H. & Sali, N., 2015. Perbedaan Daya Hambat Pasta Gigi Berbahan Herbal Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Mka*, 38(2): 116-123. doi: 10.22338/mka.v38.i2.p116-123.2015.
- Tiwari, R. K., Singh, L., Sharma, V. & Singh, P., 2018. Formulation Development Of Fast Dissolving Tablet Of Clove - The Best Nutraceutical Analgesic Tablet. *Asian Food Science Journal*, 1(3): 1-7. doi: 10.9734/AFSJ/2018/39776.
- Wadu, I., Rohaini, I. K., Gintu, A. R. & Hartini, S., 2018. Pasta Gigi Pencegah Gigi Berlubang Berbahan Aktif Mikro Hidroksiapatit (Hap) Dari Limbah Kerabang Telur Pasar Raya Kota Salatiga. *Prosiding Seminar Nasional*, 116-124.

World Health Organisation, 2012. *Media Centre Oral Health*. S.L.:S.N.

Xu, T. Gao, C., Feng, X., Huang, M., Yang, Y., Shen, X., & Tang, X. 2019. Cinnamon And Clove Essential Oils To Improve Physical, Thermal And antimicrobial Properties Of Chitosan-Gum Arabic Polyelectrolyte Complexed Films. *Carbohydrate Polymers*, 217: 116-125. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.03.084.

Xu, Y. Chu, Y., Feng, X., Gao, C., Wu, D., Cheng, W., Meng, L., Zhang, Y., & Tang, X. 2020. Effects Of Zein Stabilized Clove Essential Oil Pickering Emulsion On The Structure And Properties Of Chitosan-Based Edible Films. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 156: 111-119. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.027.

Zhao, I. S. Yin, I. X., Mei, M. L., Lo, E. C. M., Tang, J., Li, Q., So, L. Y., & Chu, C. H. 2020. Remineralising Dentine Caries Using Sodium fluoride With Silver Nanoparticles: An In Vitro Study. *International Journal Of Nanomedicine*, 2829-2839. doi: 10.2147%2FIJN.S247550.