



Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite - Nanosilver as Anti Bacteria that Cause Dental Caries

Nanda Revita Dwi Lestari, Sari Edi Cahyaningrum✉

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

Info Artikel

Diterima November 2021

Disetujui Desember 2021

Dipublikasikan Mei 2022

Keywords:

Hydroxyapatite

Nanosilver

Streptococcus mutans

Dental Caries

Abstrak

Pembentukan karies gigi merupakan hasil aktivitas bakteri *Streptococcus mutans*. Berbagai upaya dilakukan untuk mencegah karies gigi. Salah satunya menggunakan sediaan peroral mengandung senyawa antibakteri hidroksiapatit-nanosilver yang merupakan bahan aktif berefek antimikroba untuk mencegah karies gigi. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis dan mengkarakterisasi hidroksiapatit nanosilver sebagai antibakteri penyebab karies gigi. Karakterisasi secara fisikokimia dan uji antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan bahan aktif hidroksiapatit-nanosilver. Pada penelitian ini digunakan material hidroksiapatit-nanosilver dengan variasi konsentrasi nanosilver sebesar 4 ppm; 7 ppm; 10 ppm; 13 ppm; dan 15 ppm. Hasil karakterisasi FT-IR menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, CO₃²⁻, dan PO₄³⁻. Hasil uji PSA menunjukkan bahwa formulasi hidroksiapatit-nanosilver dengan konsentrasi 10 ppm memiliki ukuran nanopartikel terkecil yaitu sebesar 80,89 nm. Pengukuran uji aktivitas antibakteri menunjukkan formulasi hidroksiapatit-nanosilver mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Diameter daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ada pada formulasi hidroksiapatit-nanosilver adalah 22,5 mm pada konsentrasi nanosilver 4 ppm.

Abstract

The formation of dental caries is the result of the activity of *Streptococcus mutans* bacteria. Various attempts have been done to prevent dental caries. One of them is using oral preparations containing antibacterial compounds Hydroxyapatite-NanoSilver which is an active ingredient that can provide antimicrobial effects to prevent dental caries. This study aims to synthesize and characterize nanosilver hydroxyapatite as an antibacterial that causes dental caries. Physicochemical characterization and antibacterial test towards *Streptococcus mutans* bacteria with the active ingredient hydroxyapatite-nanosilver. In this study, hydroxyapatite-nanosilver materials with variations in nanosilver concentration of 4 ppm were used; 7 ppm; 10 ppm; 13 ppm; and 15 ppm. The results of FT-IR characterization showed the functional groups O-H, C=O, CO₃²⁻, and PO₄³⁻. The results of the PSA test showed that the hydroxyapatite-nanosilver formulation with a concentration of 10 ppm had the smallest nanoparticle size of 80.89 nm. Measurement of antibacterial activity test showed that the hydroxyapatite-nanosilver formulation was able to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria. The highest diameter of resistance to the growth of mutant *Streptococcus* bacteria in hydroxyapatite-nanosilver formulations is 22.5 mm at a nanosilver concentration of 4 ppm.

Pendahuluan

Kebersihan mulut dan kesehatannya gigi perlu untuk dijaga, sebab bermacam-macam bakteri yang memiliki sifat flora normal berada di area tersebut. Tetapi kerusakan pada gigi bisa disebabkan flora normal gigi apabila berlebihan. Timbulnya karies gigi merupakan salah satu kerusakan gigi yang sering terjadi (Saimah, 2012). Berdasarkan data *The Global Burden of Disease Study* (2016), hampir dari setengahnya populasi penduduk di dunia sekitar 3,58 milyar jiwa mengalami permasalahan kesehatan mulut serta gigi terkhususnya yakni penyakit karies pada gigi. Hasil riset kesehatan dasar (Riskesda) tahun 2018 menyatakan bahwa penyakit mulut dan gigi di Indonesia mencapai angka 45,3% dengan proporsi terbesar yaitu permasalahan gigi seperti sakit gigi ataupun berlubang, ataupun gigi yang rusak (Kemenkes, 2019).

Karies gigi dapat menyebabkan rapuhnya enamel gigi. Kerapuhan yang berkelanjutan mengakibatkan keroposnya gigi dan akan menimbulkan rasa sakit. Pembentukan karies merupakan hasil aktivitas dari bakteri. Umumnya bakteri *Streptococcus mutans* merupakan mikroba yang menjadi penyebab karies gigi (Hamalaw, *et al.*, 2021).

Streptococcus mutans merupakan golongan patogen rongga mulut yang mengakibatkan terjadinya karies gigi. Akibat adanya suasana asam ($\text{pH} < 5,5$) yang dihasilkan bakteri dalam plak di mulut menjadi penyebab munculnya demineralisasi struktur gigi (Heymann, 2013). Hingga saat ini, ada beberapa cara penanggulangan karies gigi, penambahan antibiotik, ion logam, dan bahan terapeutik dalam berbagai pengobatan gigi sebagai alternatif pemulihan karies gigi (Zhao, *et al.*, 2020). Salah satu cara menanggulangi karies adalah menggunakan bahan teraupetik seperti hidroksiapatit dengan penambahan ion logam yaitu nano silver. Pilihan bahan yang bekerja memicu remineralisasi sekaligus sebagai antibakteri adalah hidroksiapatit (HAp) dan nano silver (NpAg). Pemilihan material HAp dengan penambahan NpAg ini dipandang sangat tepat karena keduanya memiliki sifat antibakteri.

Hidroksiapatit (HAp) adalah salah satu dari jenis kalsium pospat atau apatit dalam dunia kedokteran sangat banyak dipergunakan karena HAp memiliki sifat biokompatibilitas yang sangat bagus, selain itu karena kemiripannya dengan gigi dan tulang serta kandungan mineral kimianya yang sama. HAp dapat langsung menggantikan struktur yang hilang oleh gigi selama proses demineralisasi. Berbeda dengan fluorida yang membentuk lapisan luar (Meyer & Enax, 2019). Menurut penelitian Wadu, Hartati, dan Margareta (2018), kandungan HAp sebagai bahan aktif menghasilkan aktivitas dari antibakteri yang sangat kuat terhadap bakteri yang menyebabkan karies gigi. HAp ini diharapkan bekerja ganda yakni sebagai agen remineralisasi gigi dan antibakteri (Wadu, *et al.*, 2018). HAp 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). Penambahan nanosilver diharapkan dapat meningkatkan aktifitas daya antibakteri dari HAp. Sebab, kemampuannya nanosilver dapat menghambat sintesisnya sel dari bakteri, metabolismenya sel yang terganggu, serta bisa merusak dinding sel dari bakteri.

Silver telah digunakan dalam pengobatan selama berabad-abad karena sifat antimikroba yang dimilikinya. Nanopartikel perak atau NanoSilver (NpAg) telah disintesis dan dimasukkan ke dalam beberapa biomaterial, karena ukurannya yang kecil memberikan efek antimikroba yang hebat, pada tingkat pengisi yang rendah. NpAg ini diterapkan dalam kedokteran gigi, untuk mencegah atau mengurangi pembentukan biofilm atau plak di atas permukaan bahan gigi (Correa, *et al.*, 2015).

Efek antimikroba dalam NpAg tersebut terjadi dikarenakan luasnya area permukaan sehingga menimbulkan banyaknya jumlah di permukaan, secara maksimal terbentuk kontak dengan lingkungannya. Mudahna penetrasi ke dalam membran sel dikarenakan ukuran partikelnya yang sangat kecil, sehingga efek yang ditimbulkan terhadap prosesnya intraseluler menyebabkan besarnya aktivitas serta reaksi dari antibakteri. Hal tersebut sangatlah penting dikarenakan lebih tahannya mikroorganisme biofilm terhadap agen antibakteri dibandingkan dengan patogen planktonik dan untuk perawatan yang efektif diperlukannya konsentrasi yang sangat besar (Pérez-Díaz, 2015).

Permukaan dari bakteri bisa di penetrasi oleh NanoSilver serta menjadi penyebab perubahan dari struktur bentuknya membrane sel ataupun dinding sel. Silver yaitu asam yang sangat lemah, yang cenderungnya bereaksi terhadap fosfor serta sulfur dalam DNA yang termasuk ke dalam basa yang lemah. Basa yang lemah akan bereaksi dengan nanopartikel serta permasalahan pada replikasinya DNA dari bakteri menyebabkan kematiannya sel bakteri tersebut. Selain itu, karena kecilnya ukuran partikelnya membuat penetrasi ke dalam membran sel menjadi sangat mudah, demikiannya efek yang ditimbulkan terhadap proses dari intraseluler yang menjadi penyebab besarnya aktivitas serta reaksi dari antibakteri (Haryono, 2010).

Perpaduan pemanfaatan HAp dan NpAg akan membantu meningkatkan efektifitas dalam mengurangi jumlah bakteri, mengatasi masalah karies dan plak pada gigi, serta meningkatkan efektifitas remineralisasi enamel gigi. Sehingga proses akan berlangsung lebih cepat dan efektif, bahan yang digunakan akan dimanfaatkan secara maksimal untuk menjaga kesehatan mulut dan gigi.

Sebuah penelitian yang dikembangkan oleh Cheng *et al.* (2014), melaporkan efek penggabungan NpAg pada ke komposit untuk menyelidiki sifat mekanik dan pembentukan biofilmnya menunjukkan jumlah unit pembentuk koloni (CFU) secara total *S. mutans* menggunakan NpAg lebih kecil 75% dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa NpAg. Data ini menjelaskan bahwa penggabungan NpAg ke komposit memungkinkan sifat mekanik yang baik dan potensi antimikroba yang penting, bahkan pada konsentrasi rendah (Liu, 2014). NpAg secara efektif menghambat pertumbuhan isolat klinis *S. mutans* planktonik dan membunuh biofilm *S. mutans* yang sudah ada, yang menunjukkan bahwa NpAg dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan karies gigi. Namun, NpAg pada konsentrasi tinggi (>10 ppm) menunjukkan efek sitotoksik pada fibroblas kulit manusia (Pérez-Díaz, 2015).

Berdasarkan beberapa landasan tersebut, hidroksiapatit dari tulang sapi dalam penelitian ini ditambahkan dengan nanopartikel perak untuk diaplikasikan dalam mengatasi karies gigi akibat cemaran bakteri *Streptococcus mutans* berbahan HAp-NpAg dengan perbandingan variasi konsentrasi NpAg sebesar 4; 7; 10; 13; 15 ppm.

Metode

Alat dan Bahan

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini ialah *stirrer dan hotplate*, buret, spatula, *petridisc*, pipet volume, cakram, Instrumen FT-IR, Instrumen PSA, kaca arloji, pipet tetes, labu ukur, gelas ukur, gelas kimia, serta timbanga digital. Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah aquadem, AgNO₃ (1 mM, Merck), natrium sitrat (1%, Merck), Hidroksiapatit dari tulang sapi, *Nutrien Agar*, media NB, asam fosfat (5%, Merck), dan bakteri *Streptococcus mutans*, aquades.

Sintesis NanoSilver

Sintesis NpAg dilakukan dengan teknik reduksi kimia mempergunakan natrium pereduksiannya natrium sitrat. Sebanyak 5 mL larutan natrium sitrat 1% dimasukkan dalam buret. Selanjutnya, gelas kimia berisi larutan AgNO₃ 0,001 M sebanyak 40 mL distirer dan dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditetesi dengan 5 mL larutan natrium sitrat yang tadi telah dimasukkan dalam buret. Proses *stirrer* dan pemanasan dihentikan ketika larutan mulai berubah warna menjadi kuning (Arriyanta, *et al.*, 2014).

Pembuatan Larutan Hidroksiapatit

Sebanyak 0,2 gram serbuk hidroksiapatit dari tulang sapi dilarutkan menggunakan 20 ml larutan asam fosfat 5% (v/v). Dihasilkan larutan hidroksiapatit 1% (w/v) (Lindawati & Cahyaningrum, 2018).

Sintesis Hidroksiapatit-NanoSilver

Sebanyak 2 mL larutan hidroksiapatit 1% (w/v) ditambahkan 1 mL nanosilver berkonsentrasi 15 ppm, 13 ppm, 10 ppm, 7 ppm serta 4 ppm. Selanjutnya dilakukan uji karakterisasi FT-IR guna mengetahui formulasi yang ada pada gugus fungsi (Spina, *et al.*, 2020).

Particle Size Analyzer (PSA)

Uji ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan spektra *Particle Size Analyzer* (PSA). Sampel diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung dengan tinggi maksimum 15 mm (Malvern Instruments Limited, 2012). Hasil pengujian sampel nano hidroksiapatit-nanosilver akan muncul di dalam layar komputer.

Uji Daya Hambat Bakteri

Persiapan Alat

Alat yang digunakan untuk prosedur uji aktivitas antibakteri harus melalui tahap sterilisasi. Tahap tersebut dilaksanakan menggunakan prosedur yang disesuaikan terhadap masing-masing alatnya. Erlenmeyer, gelas ukur tabung reaksi, pipet volume ditutup pada bagian mulutnya dengan memakai kapas lalu dilapisi *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 nutrient yang dibuat agar (NA) dilaksanakan dengan menggunakan cara menimbang nutrien agar (NA) *base* sebesar 2 gram, selanjutnya masukkan 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

Bakteri yang dipergunakan ialah *Streptococcus mutans* yang didapatkan dari 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 NB (nutrien broth) base pada aquades sebanyak 100 mL. Kekeruhan suspensi harus sesuai dengan standar McFarlandII yaitu 6×10^8 CFU/ml (Dewi, Nur, & Hertriani, 2015).

Uji Aktivitas Antibakteri

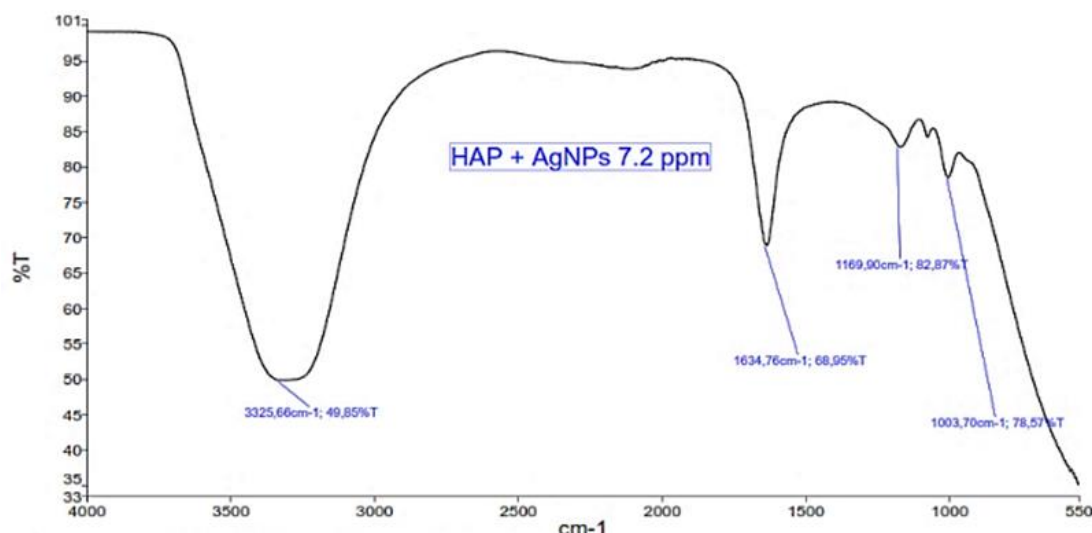
Penggunaan metode difusi cakram pada penelitian ini untuk menguji aktivitas dari antibakteri. Tahap pertama yang dilakukan adalah memanaskan kembali media nutrien agar (NA) yang sebelumnya sudah disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit dengan mempergunakan suhu sebesar 120°C (Saimah, 2012). Selanjutnya menyiapkan suspensi dari bakteri *Streptococcus mutans* yang sebelumnya sudah diinokulasi menggunakan 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 kondisi masih hangat (Afni, *et al.*, 2015). Selanjutnya *petridish* digoyang perlahan agar suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dan media nutrien agar (NA) tercampur homogen. Langkah selanjutnya, menyiapkan sampel formulasi HAp-NpAg dengan variasi komposisi NpAg 4; 7; 10; 13; 15 ppm, 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 selama 24 jam pada suhu 37°C. 24 jam sesudah diinkubasi, *petridish* dikeluarkan dari inkubator serta zona inhibisi atau zona bening diukur disetiap cakrahnya dengan menggunakan jangka sorong. Dilakukannya pengukuran terhadap zona hambat yang selanjutnya dirata-ratakan hasilnya (Dewi, *et al.*, 2015).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Uji *Fourier Transformed Infrared* (FT-IR)

Penganalisan FT-IR dipergunakan untuk identifikasi gugus fungsi pada sediaan peroral hidroksiapatit-nanosilver. FT-IR melakukan analisis secara kualitatif dengan melihat absorbansi pada sinar inframerah. Penganalisan ini berdasarkan dari penganalisan panjang gelombang disetiap puncak karakteristik pada sampelnya. Panjangnya gelombang disetiap puncaknya tersebut memperlihatkan bahwa terdapat gugus fungsi yang tertentu di sampelnya, karena masing-masing gugus fungsi mempunyai puncak karakteristiknya secara spesifik untuk gugus fungsi yang tertentu (Afifah & Cahyaningrum, 2020).

Hasil dari penganalisan karakterisasi dari spektrum FT-IR pada sampel hidroksiapatit-nanosilver bilangan gelombangnya 4.000-500 cm^{-1} hasil dari beberapa gugus fungsi yaitu OH, C=O, CO_3^{2-} , dan PO_4^{3-} yang iperlihatkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Karakterisasi FT-IR Hidroksiapatit-Nanosilver

Gugus fungsi OH pada spektra di atas ditunjukkan pada bilangan gelombang $3325,66\text{cm}^{-1}$. Serapan yang menjelaskan spektrum OH ada pada bilangan gelombang $3200\text{-}3650\text{ cm}^{-1}$ (Hikmah, *et al.*, 2018). Pada spektra tersebut, gugus CO_3^{2-} menunjukkan berada pada bilangan gelombang $1169,90\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan gugus PO_3^{4-} menunjukkan berada pada bilangan gelombang $1003,70\text{ cm}^{-1}$. Sementara itu gugus C=O pada spektra ditunjukkan pada bilangan gelombang $1634,76\text{ cm}^{-1}$. Gugus PO_4^{3-} berada kisaran $600\text{-}420\text{ cm}^{-1}$, $990\text{-}950\text{ cm}^{-1}$, $1100\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$, dan pada $2200\text{-}1990\text{ cm}^{-1}$ (Ranamanggala, *et al.*, 2020).

Hasil Uji Particle Size Analyzer (PSA)

Uji ini bertujuan guna mengetahui ukuran dari partikel yang sudah terbentuk pada sediaan hidroksiapatit-nanosilver (Maarebia, *et al.*, 2019). Pada pengujian ukuran partikel dapat dilakukan dengan instrument Particle Size Analyzer (PSA) dengan teknik *laser diffraction*. Teknik ini termasuk dalam pengujian secara kuantitatif untuk melakukan identifikasi ukuran rata-rata suatu partikel dengan 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 komputerisasi sebagai hasil distribusi ukuran partikel (Panacek, *et al.*, 2006).

Hasil dari pengujian PSA pada penelitian ini dapat diketahui ukuran rata-rata larutan hidroksiapatit-nanosilver pada beberapa konsentrasi ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi PSA Hidroksiapatit-Nanosilver

No	Konsentrasi Nanosilver (ppm)	Ukuran Partikel (nm)
1	4	81,97
2	7	83,11
3	10	80,89
4	13	84,70
5	15	83,25

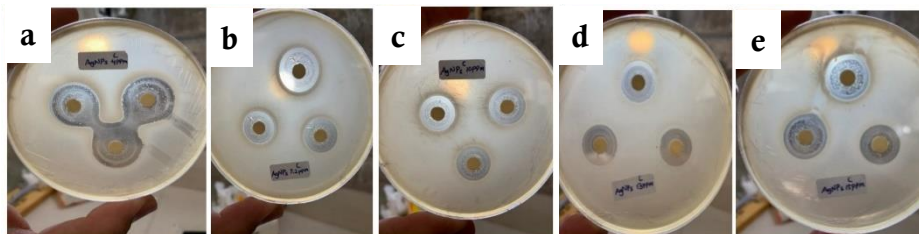
Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa ukuran partikel pada sediaan peroral hidroksiapatit-nanosilver tergolong sebagai nanopartikel dengan ukuran terkecil $80,89\text{ nm}$ pada konsentrasi 10 ppm . Uji ini membuktikan bahwa peroral hidroksiapatit-nanosilver yang disintesis berhasil mencapai ukuran nanopartikel karena masuk pada kisaran ukuran $1\text{-}100\text{ nm}$ (Oldenburg, 2011).

Uji Daya Hambat Bakteri

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan peroral hidroksiapatit-nanosilver terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dilaksanakan dengan mempergunakan teknik difusi cakram. Pengamatan dilakukan setelah proses inkubasi selama 24 jam. Hasil pengamatan difokuskan pada kemunculan zona bening yang menunjukkan kepekaan bakteri terhadap sampel yang menjadi bahan antibakteri. Zona bening pada pengujian dapat dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Kemudian zona hambat yang terbentuk diukur

menggunakan jangka sorong (Paliling, *et al.*, 2016). Penggunaan nanopartikel perak pada konsentrasi nanosilver 15 ppm; 13 ppm; 10 ppm; 7 ppm; dan 4 ppm. Kontrol negatif yakni dengan mempergunakan aquades yang daerah penghambatannya tidak terlihat serta kontrol positif dengan hidroksiapatit 1% daerah penghambatannya terlihat.

Daerah penghambatan komposit hidroksiapatit-nanosilver ditunjukkan pada Gambar 2 sesudah dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari.



Gambar 2. Aktivitas Daya Hambat Hidroksiapatit-Nanosilver terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* dengan Variasi Konsentrasi Nanosilver (a) 4ppm; (b) 7 ppm; (c) 10 ppm; (d) 13 ppm; (e) 15 ppm

Tabel 2. Daerah Penghambatan Hidroksiapatit-Nanosilver terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Sampel Uji	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Pengulangan			
	I	II	III	
HAp+NpAg 4 ppm	22,1	23,0	22,4	22,5
HAp+NpAg 7 ppm	18,4	15,8	16,8	17,0
HAp+NpAg 10 ppm	15,6	17,0	15,8	16,1
HAp+NpAg 13 ppm	16,6	17,1	15,9	16,5
HAp+NpAg 15 ppm	18,5	18,4	16,4	17,8
Hidroksiapatit 1%	14,7	11,2	9,1	11,7
Aquades	0	0	0	0

Aktivitas antibakteri terbesar ialah yang daerah hambatannya sebanyak 22,50 pada konsentrasi 4 ppm, diikuti konsentrasi 7 ppm sebanyak 17,0 mm. Aktivitas antibakteri mulai terlihat dari konsentrasi 4 ppm, tetapi sampel dengan konsentrasi nanosilver di atas 10 ppm mengalami penurunan daya hambat (Tabel 2). Hal ini membuktikan bahwa nanopartikel perak dengan ukuran terkecil dan stabilitas yang baik memiliki kemampuan antibakteri yang lebih besar.

Hasil dari mengukur daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan pengujian menggunakan statistik (Tabel 3) pada pengujian normalitasnya memperoleh nilai $p(0,200) > 0,05$ sehingga bisa dikatakan bahwasanya data terdistribusi normal. Selanjutnya pengujian data secara statistika dengan pengujian homogenitasnya memperoleh hasil $p(0,069) > 0,05$, bisa dinyatakan homogen. Terakhir, pengujian *one-way Anova* dengan taraf kemaknaan 5% untuk mengetahui perbedaan signifikan antara bahan coba secara statistik. Hasil uji Anova dihasilkan probabilitas signifikan ,000 ($p < 0,05$), hal tersebut menunjukkan H_0 ditolak sehingga sampel memiliki pengaruh yang berbeda diantara lainnya.

Tabel 3. Hasil Uji One-Way Anova pada Data Zona Penghambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	891.500	6	148.583	90.181	.000
Within Groups	23.067	14	1.648		
Total	914.567	20			

Dari zona hambat yang didapatkan, formulasi gel nano hidroksiapatit-nanosilver terbukti mampu menekan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. NanoSilver dapat melakukan penetrasi pada permukaan bakteri dan menyebabkan perubahan struktur bentuk dinding sel maupun membran sel. Silver juga merupakan asam lemah, yang cenderung bereaksi dengan sulfur dan fosfor dalam DNA yang merupakan basa lemah. Nanopartikel akan bereaksi dengan basa lemah tersebut dan menghambat replikasi DNA bakteri

sehingga menimbulkan kematian sel bakteri. Selain itu, karena ukuran partikelnya yang kecil membuat penetrasi ke dalam membran sel menjadi lebih mudah, dengan demikian berefek terhadap proses intraseluler yang menyebabkan reaksi dan aktivitas antibakteri yang lebih besar (Haryono, 2010). Diameter zona hambat yang terbentuk dapat dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu rentang di bawah 5 mm dinyatakan sebagai rendah, rentang diameter 5-10 mm dinyatakan sedang, rentang diameter 10-20 mm dinyatakan kuat dan rentang diameter di atas 20 mm dinyatakan sangat kuat (Haryono, 2010). Hasil ini selaras dengan penelitian yang dikembangkan oleh Cheng *et al.* (2014), yang melaporkan efek penggabungan NpAg pada ke komposit untuk menyelidiki sifat mekanik dan pembentukan biofilmnya menunjukkan jumlah unit pembentuk koloni (CFU) secara total *S. mutans* menggunakan NpAg lebih kecil 75% dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa NpAg. Komposit disintesis dengan AgNPs pada 0,028, 0,042, 0,088, dan 0,175%. Sifat mekanik komposit dengan AgNP di 0,028% efektif menghambat pertumbuhan isolat klinis *S. mutans*. Data ini menjelaskan bahwa penggabungan NpAg ke komposit memungkinkan sifat mekanik yang baik dan potensi antimikroba yang penting, bahkan pada konsentrasi rendah (Liu, 2014). Namun, NpAg pada konsentrasi tinggi (>10 ppm) menunjukkan efek sitotoksik pada fibroblas kulit manusia (Pérez-Díaz, 2015).

Simpulan

Hasil penelitian memperlihatkan bahwasanya analisis gugus fungsi hidroksiapatit-nanosilver menunjukkan bahwa sampel mempunyai gugus fungsional OH, CO₃²⁻, dan PO₄³⁻ yang merupakan gugus yang dimiliki hidroksiapatit dan peregangan gugus C=O dari nanosilver. Hal tersebut memperlihatkan bahwasanya sudah terjadi ikatan antaran hidroksiapatit dan nanosilver. Karakterisasi dengan PSA menghasilkan ukuran partikel yang memperlihatkan hidroksiapatit-nanosilver tergolong sebagai nanopartikel dengan ukuran partikel terkecil 80,89 nm pada konsentrasi 10 ppm. Hasil pengukuran uji aktivitas antibakteri menunjukkan formulasi hidroksiapatit-nanosilver mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Diameter daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada formulasi hidroksiapatit-nanosilver adalah 22,5 mm pada konsentrasi nanosilver 4 ppm.

Daftar Referensi

- Afifah, 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.
- Afni, N., Said, N., & Yuliet. 2015. Uji Aktivitas Anti Bakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *GALENKA Journal of Pharmacy*, 1(1): 48-58.
- Arriyanta, H., Wahyuni, S., & Priatmoko, S. 2014. Preparasi Nanopartikel Perak dengan Metode Reduksi dan Aplikasinya sebagai Antibakteri Penyebab Luka Infeksi. *Jurnal MKMI*: 36-42.
- Correa, J. M., Mori, M., Saches, H. L., Cruz, A. D., Jr, E. P., & Poiate, I. A. 2015. Review Artikel: Silver Nanoparticles in Dental Biomaterial. *International Journal of Biomaterials*.
- 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.
- Hamalaw, S. J., Kareem, F. A., & Gul, S. S. 2021. Association of dental and gingival status health with level of salivary karakteristik and *Streptococcus mutans* in children. *Journal of Dental Sciences*: 744-750.
- Haryono, A. H. 2010. Aplikasi Nanopartikel Perak pada Serat Katun sebagai Produk Jadi Tekstil Antimikroba. *Jurnal Kimia Indonesia*, 5(1): 1-6.
- Heymann HO, S. E. 2013. *Art and Science of Operative Dentistry Sixth Edition*. St. Louis: Elsevier Mosby.
- Hikmah, S. A., Rahim, E. A., & Musafira. 2018. Sintesis dan Karakteristik Polieugenol dari Eugenol Menggunakan Katalis H₂SO₄ – CH₃COOH. *KOVALEN*, 4(3): 285-296.
- Lindawati, Z., & Cahyaningrum, S. E. 2018. Pengaruh Komposisi Hidroksiapatit/Kitosan/Kolagen Terhadap Karakteristik Bonegraft. *UNESA Journal of Chemistry*, 7(3): 101-104.
- Lomboan, E. R., Yamlean, P. V., & 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.

- M.A. Pérez-Díaz, e. a. 2015. Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activities Against Streptococcus mutans and Their Cytotoxic Effect. *Materials Science and Engineering*: 360-366.
- Maarebia, R. Z., Wahab, A. W., & Taba, P. 2019. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Water Extract of Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) for Blood Glucose Sensors. *Indonesia Chimica Acta*, 12(1): 30-46.
- Malvern Instruments Limited. 2012. *A Basic Guide To Particle Characterization*. USA: Malvern Instruments Limited.
- Meyer, F., & Enax, J. 2019. Hydroxyapatite in Oral Biofilm Management. *European Journal of Dentistry*, 13 (2): 287-290.
- Oldenburg. 2011. *Silver Nanoparticles: Properties and Applications*. USA: Sigma Aldrich.
- 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.
- Panacek, A., Kvítek, L., Kolar, M., Večeřová, R., Pizúrová, N., Sharma, V. K., & Zboril, R. 2006. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. B* 2, 110(33): 16248-16253.
- Ranamanggala, J. A., Nurlaili, D. I., & Yossy, N. A. 2020. Potensi Hidroksiapatit dari Tulang Ayam Sebagai Pelapis Implan Gigi . *Jurnal Kimia Riset*, 5(2): 141-150.
- Saimah, N. 2012. Formulasi Pasta Gigi Kitosan dari Limbah Kulit Udang dan Uji Aktivitas terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Skripsi Farmasi UIN Alauddin Makassar*.
- Spina, R. L., Mehn, D., Fumagalli, F., Holland, M., Reniero, F., Rossi, F., & Gilliland, D. 2020. Synthesis of Citrate-Stabilized Silver Nanoparticles Modified by Thermal and pH Preconditioned Tannic Acid. *Journal Nanomaterials*.
- T. Liu, X. S. 2014. Prolonged Antibacterial Effect of Silver Nanocomposites with Different Structures. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 116: 793-796.
- 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. *e-journal Unisri*: 116-124.
- Zhao, I., Yin, I., Mei, M., Lo, E., Tang, J., Li, Q., & Chu, C. 2020. Remineralising Dentine Caries Using Sodium Fluoride with Silver Nanoparticles: An In Vitro Study. *International Journal of Nanomedicine*: 2829-2839.