

DAYA ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL CU HASIL LASER ABLATION TERHADAP *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Nabila Dyah Rifani¹, Inayah Mumpuni Budiati², Fatkhiyatus Sa'adah², Tyas Prihatiningsih³

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Fisika, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Bagian Ilmu Penyakit Gigi dan Mulut, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Karies gigi adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *Streptococcus mutans* biasanya hadir dalam bentuk biofilm oral atau plak gigi. Karena itu mengontrol karies gigi dapat dilakukan dengan menghambat aksi bakteri. Penggunaan nanopartikel, sebagai agen baru untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Metode *laser ablation* memanfaatkan laser Nd:YAG dengan energi yang rendah untuk mengablasi permukaan sampel sehingga menghasilkan nanopartikel dengan kemurnian tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh nanopartikel Cu (CuONPs) yang disintesis dengan metode *laser ablation* pada berbagai konsentrasi terhadap viabilitas *Streptococcus mutans* dengan mengukur diameter zona hambatnya. **Metode:** Penelitian ini terdiri dari empat konsentrasi nanopartikel Cu dalam pvp yaitu 15,25,30, dan 40 ppm. Kertas cakram berdiameter 6mm direndamkan kedalam larutan nanopartikel, selanjutnya diletakkan dalam media agar yang telah dikultur dengan *Streptococcus mutans* dan dilakukan inkubasi selama 24 jam **Hasil:** Nanopartikel Cu dengan konsentrasi 25 ppm mampu menunjukkan diameter zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa Nanopartikel Cu mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. **Simpulan:** Pemberian nanopartikel Cu pada berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci: Nanopartikel Cu, *S.mutans*, Diameter Zona Hambat

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL POTENTIAL OF CU NANOPARTICLE RESULTS OF LASER ABLATION ON *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Background: Dental caries is a disease caused by *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* bacteria are usually present in the form of oral biofilms or dental plaque. Therefore controlling dental caries can be done by inhibiting the action of bacteria. The use of nanoparticles, as a new agent to inhibit microbial growth. The laser ablation method utilizes a low energy Nd: YAG laser to lacerate the surface of the sample to produce high purity nanoparticles. This study aims to determine the effect of Cu nanoparticles (CuONPs) ablation laser synthesis at various concentrations on the viability of *Streptococcus mutans* as measured by the inhibition zone. **Method:** This study consisted of four concentrations of Cu nanoparticles in pvp namely 15.25,30, and 40 ppm. 6 mm diameter disc paper is immersed in a nanoparticle solution, then placed in agar media that has been cultured with *Streptococcus mutans* and is incubated for 24 hours. **Results:** Cu nanoparticles with a concentration of 25 ppm have been able to show inhibition zone diameters. This shows that Cu Nanoparticles have antibacterial power against the growth of *Streptococcus mutans*. **Conclusion:** The administration of Cu nanoparticles at various concentrations affected the growth of *S. mutans*.

Keywords: Cu Nanoparticles, *S. mutans*, Inhibition Zone Diameter

PENDAHULUAN

Mulut merupakan salah satu organ penting pada manusia. Di dalam rongga mulut terdapat mikroorganisme atau mikroflora normal yang mempunyai hubungan yang harmonis dengan gigi, permukaan mukosa, saliva, dan cairan krevikular gingiva. Perubahan hubungan tersebut dapat menyebabkan terjadinya penyakit di dalam rongga mulut. Manifestasi klinis dari ketidakseimbangan hubungan antara mikroflora dan rongga mulut yang paling umum adalah terjadinya karies gigi dan penyakit periodontal. Penderita karies gigi di Indonesia memiliki prevalensi sebesar 50%–70%.⁵

Karies gigi adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*.² Bakteri *Streptococcus mutans* biasanya hadir dalam bentuk biofilm oral atau plak gigi. Karena itu mengontrol karies gigi dapat dilakukan dengan menghambat aksi antibakteri.⁶

Penggunaan nanopartikel, sebagai agen baru untuk menghambat pertumbuhan mikroba, telah berkembang karena perkembangan resistensi antibiotik.^{1,10} Nano-logam telah digunakan lebih banyak karena toksisitas yang lebih rendah.^{3,12} *American Environmental Protection Agency* (EPA) menyatakan tembaga telah terdaftar sebagai logam pertama dan satu-

satunya yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba.¹⁴ Nanopartikel oksida tembaga (CuO NP) adalah anggota paling sederhana dari senyawa Cu yang mempunyai berbagai sifat fisik potensial dan jauh lebih murah daripada oksida perak. Dapat dengan mudah dicampur dengan polimer untuk memberikan komposit dengan sifat fisika-kimia yang unik.²

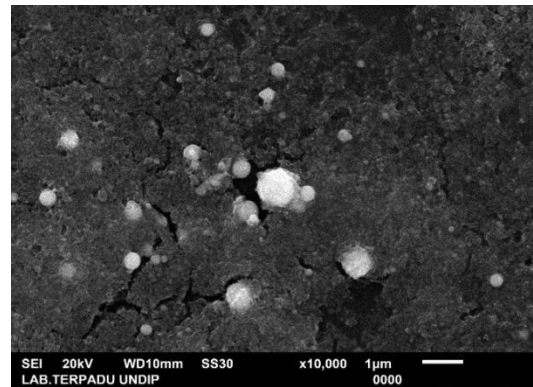
Teknik sintesis untuk memperoleh nanopartikel Cu dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti *spray pyrolysis*, *sol-gel*, *hydrothermal* dan kopresipitasi. Namun metode tersebut memiliki beberapa kelemahan yakni preparasi sampel yang rumit, peralatannya rumit dan menggunakan bahan tambahan selama sintesis sehingga nanopartikel yang dihasilkan masih mengandung pengotor. Terdapat teknik lain yang lebih efektif dalam memperoleh nanopartikel Cu yaitu menggunakan metode *laser ablation*. *Laser ablation* memanfaatkan laser Nd:YAG dengan energi yang rendah untuk mengablasi permukaan sampel sehingga menghasilkan nanopartikel dengan kemurnian tinggi. Hal ini dikarenakan kemurnian partikel pada dasarnya ditentukan oleh kemurnian target dan media (gas atau cair) tanpa kontaminasi dari reaktan.⁹

METODE

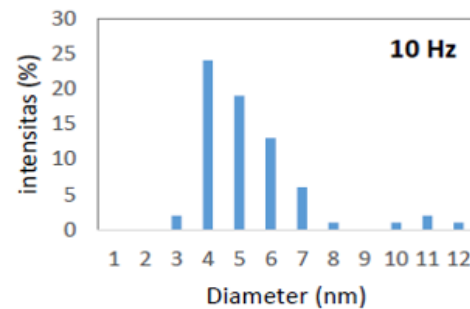
Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juli 2019. Sampel penelitian ini meliputi nanopartikel Cu dalam material pengkapsulasi *polyvinylpyrrolidone* (PVP) 10 mmol dengan kadar 15,25,30 dan 40 ppm yang berasal dari Laboratorium optoelektronika dan laser Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Koloni *Streptococcus mutans* yang berasal dari Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, Semarang. Sebelum penelitian, dilakukan sterilisasi bahan dan peralatan penelitian. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam dalam sampel nanopartikel dalam larutan 10 ml pvp. Kemudian diletakkan pada *Nutrient Agar* yang sebelumnya telah dikulturkan bakteri *Streptococcus mutans*. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 1 x 24 jam kemudian zona hambat diukur dengan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm.

HASIL

Distribusi ukuran nanopartikel Cu yang berhasil di sintesis dapat diketahui dari hasil gambar SEM dengan pengolahan menggunakan software imageJ yang ditunjukkan pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Distribusi ukuran Nanopartikel Cu dengan Uji SEM



Gambar 2. Hasil Pengolahan Hasil SEM dengan software imageJ

Diameter rata-rata ukuran nanopartikel Cu hasil sintesis dengan metode *laser ablation* untuk variasi konsentrasi pvp10 mmol adalah 7,70 nm.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Nanopartikel Cu terhadap *Streptococcus mutans*

| No. | Konsentrasi Nano Cu | Diameter Zona Hambat |
|-----|---------------------|----------------------|
| 1 | 15 ppm | - |
| 2 | 25 ppm | 0,05 mm |
| 3 | 30 ppm | 0,20 mm |
| 4 | 40 ppm | 2,75 mm |

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa kadar 15 ppm nanopartikel tembaga dalam 10 mmol pvp belum bisa menghambat pembunuh bakteri *Streptococcus mutans* dengan tidak terbentuknya zona bening. Kemudian, pada kadar 25 ppm terbentuk zona bening yaitu 0,05 mm, kadar 30 ppm sebesar 0,20 mm, dan pada kadar 40 ppm sebesar 2,75 mm.

PEMBAHASAN

Karies gigi adalah penyakit kronis irreversibel yang dimulai oleh *Streptococcus mutans* sebagai mikroorganisme anaerob fakultatif Gram-positif.¹¹ *Streptococcus mutans* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dalam lingkungan asam dengan memodulasi jalur metabolisme gula ditambah dengan ikatan ireversibel ke gigi. Pada tahap selanjutnya terjadi invasi *Streptococcus mutans* bergabung dengan spesies mikroba lainnya, diikuti oleh proliferasi dan menyebar ke situs lain di mukosa mulut yang dimodulasi oleh aksi bersama gen dan molekul. Pada tahap akhir, biofilm mencapai kondisi stabil yang mengubah keseimbangan ekologi oral; sebagai hasilnya, bakteri memperoleh akses ke jaringan yang

lebih dalam dan menyebabkan penghancuran kristal hidroksiapatit dalam enamel dan dentin yang menghasilkan kavitas di dalam gigi.⁸

Hasil pengujian menunjukkan bahwa zona hambat mulaibentuk pada pemberian CuNPs dengan kadar 25 ppm yaitu sebesar 0,05 mm, kadar 30 ppm sebesar 0,2 mm, dan pada kadar 40 ppm sebesar 2,75 mm. Sehingga, semakin meningkat kadar nanopartikel tembaga maka daya bunuh bakteri akan semakin kuat. Hal ini berkorelasi dengan penelitian yang dilakukan oleh liliana, dkk yang menyebutkan bahwa pada kadar 1.000.000 (1000 µg / mL) belum bisa mencapai penghambatan total pertumbuhan bakteri.¹³ Namun, dengan terbentuknya diameter zona hambat disekitar CuONPs menunjukkan bahwa terbentuknya antibakteri karena adhesinya ke membrane sel bakteri, memberikan efek pada struktur protein membrane sel, denaturasi protein intraseluler dan mengganggu replikasi DNA^{7,13,15}

Mekanisme antibakterial CuNPs terbagi menjadi beberapa mekanisme. CuNPs akan melepaskan ion logam berupa Cu⁺. Oksidasi permukaan nanopartikel logam (Cu) dan oksidasi logam (Cu⁺)

dapat menyebabkan pelepasan kation. Ketika CuNPs terakumulasi pada permukaan membran bakteri akan bereaksi dengan melepaskan ion logam Cu^+ dan Cu^{2+} , Cu^+ bersifat tidak stabil sehingga banyak ditemukan dalam bentuk Cu^{2+} melalui reaksi :



Ion logam merupakan mediator sejati toksisitas intraseluler terhadap sel bakteri. Serapan ion Cu^{2+} berinteraksi dengan asam amino dan mengganggu sintesis protein, mengikat fosfolipid dan meningkatkan permeabilitas membran sehingga mengakibatkan lisis.⁴

Ukuran partikel CuNPs memungkinkan adanya interaksi dengan permukaan bakteri. Membran sel bakteri akan diikat kuat oleh partikel CuNPs sehingga mengakibatkan kerusakan struktur sel. Partikel CuNPs yang semakin kecil ukurannya akan mudah terakumulasi membuat permeabilitas membran meningkat, terjadi kebocoran membran (lisis) sehingga tidak dapat mengatur transportasi melalui membran yang berakibat kematian.⁴

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Kadar terkecil Nanopartikel Cu (CuONPs) yang mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu 25 ppm.
2. Aktivitas antibakteri nanopartikel Cu dalam membunuh bakteri *Streptococcus mutans* meningkat seiring dengan besar konsentrasi nanopartikel yang digunakan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang pengaruh nanopartikel tembaga terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan kadar yang lebih tinggi. Penting juga dilakukan penelitian lebih lanjut secara in vivo.

DAFTAR PUSTAKA

1. Allaker RP. The Use of nanoparticles to control oral biofilm formation. J Dent Res. 2010;89:1175-1186.
2. Chang YN, Zhang M, Xia L, et al. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. Materials. 2012;5:2850-2871.
3. Cioffi N, Rai M. Nano-antimicrobials: progress and prospects. 1st Edition. Berlin : Springer Berlin Heidelberg Germany. 2012.
4. Cotton, G.C., Lagesseand, N.R.,

- Parke, L., antibacterial Nanoparticles. Comprehensive Nanoscience and Nanotechnology, 2nd edition. 2018.
5. Depkes RI. Profi 1 Kesehatan Indonesia 2010. http://www.depkes.go.id/downloads/PROFIL_KESEHATAN_INDONESIA_2010.pdf.
 6. Dhika, Perbandingan Efek Antibakterial Berbagai Konsentrasi Daun Sirih (*Piper Betle* Linn) Terhadap *Streptococcus mutans*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2008. Hal 5-17.
 7. Gyawali, R., Ibrahim, S.A., Hasfa, A.H., dkk. Antimicrobial activity of copper alone and in combination with lactic acid against *Escherichia coli* 0157: H7 in laboratory medium and on the surface of lettuce and tomatoes. *Journal Pathogen*, 650968. 2010.
 8. Isalm B KS, Khan AU. Dental caries: from infection to prevention. *Med Sci Monit*. 2010.13: RA196–203.
 9. Kim, M., Osone, S., Kim, T., Higashi, H. dan Seto, K. Synthesis of Nanoparticles by Laser Ablation. *KONA powder and particle journal*. 2016. Volume 34: 80-90
 10. Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, et al. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;34:103-110.
 11. M. Fatemeh, H. Soraya, A. Y. Mohammad, P. Jalal, and S. Javad, “Antibacterial effect of eucalyptus (*globulus Labill*) and garlic (*Allium sativum*) extracts on oral Cariogenic bacteria,” *Journal of Microbiology Research and Reviews*, vol. 1, no. 2. 2013. pp. 12–17,
 12. Lara HH, Romero-Urbina DG, Pierce C, et al. Effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* biofilms: an ultrastructural study. *J Nanobiotechnology*. 2015;13:91.
 13. Liliana Argueta-Figueroa., et all., Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Copper, nickel and Bimetallic Cu-Ni Nanoparticles for Potential Use in Dental Materials. 2014.
 14. Prado JV, Vidal AR, Duran TC. Application of copper bactericidal properties in medical practice. *Rev Med Chil*. 2012. 140: 1325-1332.
 15. Raffi, M., Mehrwan, S., Bhatti, T.M., dkk. “Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli*”. *Annals of Microbiology* 60, 2010. 5-80p