

**Efektivitas Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera*) 10%
Terhadap *Enterococcus faecalis*
Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar (studi in vitro)**

TESIS



Oleh:

Murniati Muhiddin

J025 191 003

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2022**

**Efektivitas Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera*) 10%
Terhadap *Enterococcus faecalis*
Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar (studi in vitro)**

TESIS

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Profesi
Spesialis Bidang Konservasi Gigi**

Disusun dan Diajukan Oleh:

MURNIATI MUHIDDIN

J025191003

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2022

PENGESAHAN TESIS

**Efektivitas Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera*) 10%
Terhadap *Enterococcus faecalis*
Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar (studi in vitro)**

**Diajukan Oleh:
MURNIATI MUHIDDIN
J025191003**

**Telah Disetujui,
Makassar, 26 Juli 2022**

Pembimbing I

**Dr. drg. Juni Jekti N., Sp.KG(K)
NIP. 19710625 200501 2 001**

Pembimbing II

**Dr. drg. Hafsah Katu, M.Kes
NIP. 19601212 199412 2 001**

**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi**



**drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)
NIP. 19640518 199103 2 001**

**Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin**



**Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Prof(K)
NIP. 19631104 199401 1 001**

TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

PADA TANGGAL, 27 JUNI 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)

Anggota : Dr. drg. Hafsah Katu, M.Kes

drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)

Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc

Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS

Mengetahui,

**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi**



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)

NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Murniati Muhiddin
Nomor Mahasiswa : J025191001
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Bidang Studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 Juli 2022

Yang Menyatakan,



Murniati Muhiddin

v

v

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum wr. wb

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas kehendak, berkat dan rahmat hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Efektivitas nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera*) 10% terhadap *Enterococcus faecalis* sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar (studi in vitro)”.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. **Prof. drg. Muhammad Ruslin, M. Kes., Ph.D., Sp.BM(K)** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin periode 2019-2023 atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)** sebagai Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga, dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini.
3. **Dr. drg. Hafsah Katu, M. Kes** sebagai Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga, dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini.
4. **drg. Nurhayati Natsir, Ph. D, Sp.KG(K)** sebagai Ketua Prodi Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin dan sekaligus sebagai Penguji, yang telah memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.

5. **Prof. Dr.drg. Rasmidar Samad, MS** sebagai penguji yang telah memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **Dr.drg. Maria Tanumihardja, MDSc** sebagai dosen dan penguji telah memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
7. **drg. Christine A. Rovani, Sp KG(K), drg. Noor Hikmah, Sp.KG (K), drg. Wahyuni Suci Dwi Andhany, Sp.KG(K), Ph. D, Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M. Kes,** sebagai dosen yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
8. **Drs. Subaer, M. Phil, Ph. D** sebagai Kepala Laboratorium Mikrostruktur Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung
9. **Hikmanul Irfiani Daud, S. Si** sebagai PLP Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung.
10. Seluruh staf Laboratorium Mikrostruktur Fisika dan Biologi MIPA, Universitas Negeri Makassar yang telah banyak membantu selama berlangsung proses penelitian.
11. Teman seperjuangan penelitianku **Sartika Rahmawati Rombe Layuk,** dan **Musthika Jathiasih** yang telah melalui suka dan duka bersama selama penelitian.
12. Teman-teman residen Konservasi Gigi terkhusus 2019 (**Mutmainnah Majaya, Sulton Rahmi, Harmiyati Gappar, Chandra Firdaus, St. Asmaul Husna, Warni Eka Muthia, Esfandiary, Nurvita Titi Ikawati,**

Mustakim Mustafa) yang sudah menjadi sahabat sekaligus saudara yang selalu menguatkan selama menempuh pendidikan.

16. Terkhusus kepada:

- a. Suami tercinta, **Bripka. Karsono**, terima kasih atas segala doa, dukungan dan kesabaran selama penulis menuntut ilmu.
- b. Orangtua kami tercinta **H. Muhiddin** dan **Hj. Massang**, terima kasih atas segala doa dan dukungan kepada penulis selama penulis menjalani pendidikan.
- c. Ayah dan ibu mertua tercinta, **H. Muhammad Kadir** dan **Hj. Saimah, S. pd**, terima kasih atas doa dan dukungan kepada penulis selama ini.
- d. Saudara-saudari penulis, **Mursalim SE, ME; Muliati S. Pd; dr. Masati M, Sp. Rad, M. Kes; Mustamin M, SH** dan **Mustari M, S. ST**, terima kasih atas doa dan dukungan kepada penulis selama ini.

Akhirnya dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dan semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, ridha dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, Juli 2022

Murniati Muhiddin

ABSTRAK

MURNIATI MUHIDDIN: Efektivitas Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera*) 10% Terhadap *Enterococcus faecalis* Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar (studi *in vitro*).

(Dibimbing oleh **Juni Jekti Nugroho, Hafsa Kato**)

Latar belakang: Tujuan perawatan endodontik adalah mengeliminasi infeksi dan mencegah reinfeksi pada saluran akar. Salah satu tahapan penting untuk mencapai tujuan tersebut adalah melakukan *cleaning and shapping* dengan instrumentasi dan irigasi saluran akar. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri dengan prevalensi yang tinggi pada infeksi persisten dan asimtomatik. Sodium hipoklorit (NaOCl) dan klorheksidin (CHX) adalah bahan irigasi yang sering digunakan dan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*, namun bersifat toksik. *Moringa oleifera* merupakan bahan alam yang memiliki aktivitas antibakteri karena memiliki bahan aktif saponin, flavonoid, tanin dan alkaloid. Pembuatan dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan efektifitas *Moringa oleifera*. **Tujuan:** Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% terhadap jumlah *Enterococcus faecalis*. **Metode:** penelitian ini menggunakan 30 gigi premolar rahang bawah yang dibagi dalam lima kelompok. Kelompok I diirigasi aquades sebagai kontrol negatif, kelompok II diirigasi nanopartikel *Moringa oleifera* 5%, kelompok III diirigasi nanopartikel *Moringa oleifera* 10%, kelompok IV diirigasi NaOCl 5,25% sebagai kontrol positif I, dan kelompok V diirigasi CHX 2% sebagai kontrol positif II. *Total Plate Count* digunakan untuk menghitung jumlah bakteri *Enterococcus faecalis* setelah diberi perlakuan dengan nanopartikel *Moringa oleifera*. **Hasil:** Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,00$) antara semua bahan irigasi yang digunakan terhadap penurunan jumlah bakteri *Enterococcus faecalis*. Nanopartikel *Moringa oleifera* menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka jumlah bakteri semakin menurun. **Kesimpulan:** Efektivitas antibakteri larutan nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 10% tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan NaOCl 5,25% dan CHX 2% dalam menurunkan jumlah bakteri *Enterococcus faecalis*.

Kata kunci: antibakteri, *Enterococcus faecalis*, nanopartikel, *Moringa oleifera*

ABSTRACT

MURNIATI MUHIDDIN: Effectiveness of 10% *Moringa oleifera* Nanoparticles on *Enterococcus faecalis* as an Alternative Root Canal Irrigant (in vitro study)
(Supervised by **Juni Jekti Nugroho, Hafsa Katsu**)

Background: The aim of endodontic treatment is to eliminate infection and prevent reinfection of the root canal. One of the important steps to achieve that goal is cleaning and shaping by instrumentation and root canal irrigation. *Enterococcus faecalis* is bacteria with a high prevalence in persistent and asymptomatic infections. Sodium hypochlorite (NaOCl) and chlorhexidine (CHX) are frequently used irrigants. They have ability to inhibit the growth of *Enterococcus faecalis*, but toxic. *Moringa oleifera* is a natural ingredient, which has antibacterial activity because it contains saponin, flavonoid, tannin and alkaloid. Manufacturing in the form of nanoparticles can increase the effectiveness of *Moringa oleifera*. **Objective:** This study aims to determine the antibacterial effect of 5% and 10% Moringa leaf extract nanoparticles (*Moringa oleifera*) on the number of *Enterococcus faecalis*. **Methods:** This study used 30 mandibular premolars, divided into five groups. Group 1 irrigated distilled water as a negative control, group II irrigated 5% *Moringa oleifera* nanoparticles, group III irrigated 10% *Moringa oleifera* nanoparticles, group IV irrigated 5,25% NaOCl as a positive control I, and group V irrigated CHX 2% as positive control II. Total Plate Count used to count the number of *Enterococcus faecalis* bacteria after treated with *Moringa oleifera* nanoparticles. **Result:** Kruskal Wallis test showed a significant difference ($p=0.00$) between all irrigants for decreasing the number of *Enterococcus faecalis*. *Moringa oleifera* nanoparticles group showed that the higher the concentration, the number of bacteria also decreased. **Conclusion:** The antibacterial effectiveness of 10% *Moringa oleifera* extract nanoparticle solution was not significantly different compared to 5,25% NaOCl and 2% CHX in reducing the number of *Enterococcus faecalis*.

Keywords: Antibacterial, *Enterococcus faecalis*, nanoparticles, *Moringa oleifera*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PRASYARAT GELAR	ii
PENGESAHAN UJIAN TESIS	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1	PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Irigasi Saluran Akar	5
2.1.1 Sodium Hipoklorit (NaOCl)	6
2.1.2 Khlorheksidin	7
2.4 <i>Enterococcus faecalis</i>	8

	2.3 Daun Kelor	9
	2.2.1 Morfologi Kelor	10
	2.2.2 Kandungan daun Kelor	11
	2.4 Nanopartikel	12
	2.5 Metode <i>Total Plate count</i>	13
BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN	
	HIPOTESIS	
	3.1 Kerangka Teori	16
	3.2 Kerangka Konsep	17
	3.3 Hipotesis	18
	3.4 Keterbatasan Penelitian	18
BAB IV	METODOLOGI PENELITIAN	
	4.1 Rancangan Penelitian	19
	4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	19
	4.3 Identifikasi Sampel Penelitian	20
	4.4 Variabel Penelitian	21
	4.5 Definisi Operasional Penelitian	22
	4.6 Bahan dan Alat Penelitian	22
	4.7 Prosedur Penelitian	27
	4.8 Pengolahan dan Analisis Data	33
	4.9 Alur Penelitian	35
BAB V	HASIL PENELITIAN	
	5.1 Hasil Pemeriksaan Uji KHM.....	36

5.2 Hasil Pemeriksaan Total Plate Count.....	37
5.3 Hasil Analisa Data	38
BAB VI PEMBAHASAN	41
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN PENELITIAN	52

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang / Singkatan	Arti dan Keterangan
NaOCl	Sodium Hipoklorit
CHX	Chlorhexidine
EDTA	Eethilene Diamine Tetraacetic Acid
MTAD	Mixture of tetracycline, an acid and a detergent
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
pH	Potential Hydrogen
Cm	Centimeter
TPC	Total Plate Count
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
CFU	Colony Forming Unit
Mg	Magnesium
HCL	Asam klorida
FT-IR	Fourier-transform Infrared Spectroscopy
XRD	X-Ray Diffraction
ATCC	The American Type Culture Collection
μl	Mikroliter

BHIB	Brain Heart Infusion Broth
μm	Mikrometer
nm	Nanometer
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
KHM	Konsentrasi Hambat Minimal
SPSS	Statistical Package for the Social Science
rpm	Revolution Per Minute
PBS	Phosphate Buffered Saline
TBUD	Tidak Bisa Untuk Dihitung

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Daun kelor	10
Gambar 5.1. Koloni <i>Enterococcus faecalis</i> setelah irigasi dengan nanopartikel ekstrak <i>Moringa oleifera</i> dengan konsentrasi berbeda (5% dan 10%) dalam BHI. Aquades digunakan sebagai kontrol negatif, NaOCl 5,25% dan CHX 2% sebagai kontrol	38
Gambar 5.2. Jumlah <i>Enterococcus faecalis</i> (CFU/mL) setelah irigasi dengan nanopartikel ekstrak <i>Moringa oleifera</i> dengan konsentrasi yang berbeda (5% dan 10%) menggunakan metode penghitungan TPC. Kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif menggunakan NaOCl 5,25% dan CHX 2%	39

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil perhitungan bakteri Konsentrasi Hambat	
Minimal (KHM)	37
Tabel 5.2 Nilai rata-rata uji efek antibakteri nanopartikel	
ekstrak Moringa oleifera terhadap bakteri jumlah	
Enterococcus faecalis (CFU/ml x 10 ⁴).....	38
Tabel 5.3 Hasil uji statistik Post hoc Mann-Whitney efek anti-	
bakteri nanopartikel ekstrak Moringa oleifera	
terhadap jumlah Enterococcus faecalis (CFU/ml x 10 ⁴)	40

DAFTAR LAMPIRAN

1. Rekomendasi Persetujuan Etik
2. Dokumentasi Penelitian
3. Hasil analisa uji statistik menguunakan SPSS for Windows versi 26.0
4. Sertifikat hasil analisis nanopartikel *Moringa oleifera* pada laboratorium Mikrostruktur Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar.
5. Sertifikat Hasil Uji sedian bakteri *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) pada Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Mikroorganisme berperan penting pada penyakit pulpa dan periapikal (Murvindran & Raj, 2014). Saluran akar yang terinfeksi mengandung sekitar 10^3 - 10^8 sel bakteri dan rata-rata terdiri dari 10 - 20 spesies dengan kemampuan bertahan hidup yang baik dibandingkan mikroorganisme lainnya yang ada di rongga mulut (Siqueira, 2011; Iqbal, 2012).

Enterococcus faecalis adalah bakteri gram positif dan fakultatif anaerob yang paling sering terdeteksi pada infeksi endodontik yang persisten dan asimtomatik, dengan nilai prevalensi mencapai 90% dan merupakan penyebab utama kegagalan perawatan endodontik. Bakteri dapat melekat pada dinding saluran akar dan berakumulasi membentuk komunitas biofilm, yang menjadi mekanisme bagi resistensi dan persistensi bakteri paska prosedur antibakteri intrakanal, sehingga bakteri dapat terbebas dari efek instrumen dan irigasi yang digunakan selama prosedur kemomekanis (Siqueira, 2011).

Terdapat beberapa bahan irigasi yang memiliki sifat antibakteri yaitu sodium hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), *ethilene diamine tetraacetic acid* (EDTA), *mixture of tetracycline, an acid and a detergent* (MTAD), iodine, hidrogen peroksida, namun yang sering digunakan dan dikenal dengan kemampuan antibakterinya adalah sodium hipoklorit (NaOCl) dan klorheksidin (CHX). Sodium hipoklorit memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas dan membunuh bakteri pembentuk spora dan vegetatif, fungi, protozoa dan virus dengan cepat. Sodium

hipoklorit memperoleh efek antibakteri dengan mengganggu aktivitas metabolik sel-sel bakteri dan berefek fatal bagi derivat DNA bakteri, akan tetapi NaOCl dapat menyebabkan iritasi bila terdorong ke jaringan periapikal, serta tidak mampu melarutkan komponen anorganik (Iqbal, 2012; Hargreaves *et al.*, 2016; Zehnder, 2006; Haapasalo, 2008). Klorheksidin (CHX) merupakan bahan irigasi dengan kemampuan antibakteri spektrum luas, memiliki aktivitas bakteristatik dan bakteriosidal, namun bahan ini bersifat karsinogenik, kurang efektif pada bakteri gram negatif, tidak mampu melarutkan jaringan nekrotik dan tidak mampu menghilangkan *smear layer* (Iqbal, 2012; Torabinejad & Walton, 2015; Zehnder, 2006).

Berdasarkan beberapa keterbatasan bahan irigasi yang ada dan untuk mengurangi efek samping dari bahan kimia, maka pendekatan penelitian saat ini mengarah pada penggunaan bahan alam. Salah satu tanaman yang memiliki sifat antibakteri adalah daun kelor (*Moringa oleifera*) karena mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid, yang memiliki mekanisme tersendiri dalam membunuh bakteri (Patil & Rasika, 2013; Wang, Chen & Wu, 2016).

Shailemo (2016) menyatakan bahwa ekstrak daun kelor sangat efektif terhadap *Enterococcus faecalis*. Penelitian Sopandani (2020) membuktikan larutan ekstrak *Moringa oleifera* pada konsentrasi 75% dan 100% memiliki efek antibakteri yang sama dengan NaOCl 5,25%, namun konsentrasi ekstrak *Moringa oleifera* yang digunakan masih sangat tinggi sehingga bisa meninggalkan sedimen dalam saluran akar dan diskolorasi pada gigi.

Teknologi nanopartikel mulai dikembangkan beberapa dekade terakhir dengan tujuan diantaranya untuk mengatasi kelarutan zat aktif yang sulit larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, memodifikasi sistem penghantaran obat sehingga obat dapat langsung menuju daerah yang spesifik, meningkatkan stabilitas zat aktif dari degradasi lingkungan dan memperbaiki absorpsi senyawa makromolekul (Mohanraj & Chen, 2007).

Nanopartikel ekstrak *Moringa oleifera* merupakan alternatif yang diharapkan dapat meminimalisir residu dan pewarnaan dari ekstrak *Moringa oleifera*, dapat mencapai bagian tubulus dentinalis yang lebih dalam dan tentunya akan membunuh lebih banyak bakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya dan sifat yang menguntungkan dari nanopartikel, maka penulis ingin mengevaluasi efek antibakteri *Moringa oleifera* sediaan nanopartikel dalam membunuh bakteri *Enterococcus faecalis*.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: apakah terdapat efek antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% terhadap jumlah *Enterococcus faecalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Mengetahui efek antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% terhadap jumlah *Enterococcus faecalis*.

Tujuan Khusus

1. Membandingkan efek antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% terhadap jumlah *Enterococcus faecalis*.
2. Membandingkan efek antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% dengan NaOCl 5,25% terhadap jumlah *Enterococcus faecalis*.
3. Membandingkan efek antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% dengan CHX 2% terhadap jumlah *Enterococcus faecalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat Iptek

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam pemanfaatan teknologi nanopartikel di bidang kedokteran gigi sebagai inovasi pengetahuan khususnya bidang konservasi gigi untuk alternatif bahan irigasi saluran akar.

Manfaat Klinis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis konservasi gigi pada khususnya mengenai alternatif bahan irigasi saluran akar yang aman dan efektif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Irigasi Saluran Akar

Keberhasilan perawatan saluran akar bergantung dari eliminasi bakteri dan pencegahan reinfeksi. Salah satu tahapan penting yang perlu diperhatikan untuk mencapai tujuan tersebut adalah desinfeksi dengan bahan irigasi saluran akar (Ghorbanzadeh *et al.*, 2015).

Tujuan irigasi saluran akar pada prinsipnya dibagi tiga, yaitu tujuan mekanis, kimiawi dan biologis. Tujuan mekanis dan kimia meliputi penghilangan debris, melumasi saluran akar, melarutkan jaringan organik dan anorganik, serta melarutkan *smear layer* selama instrumentasi, sedangkan tujuan biologisnya berhubungan dengan efek antibakteri (Hargreaves *et al.*, 2016).

Pentingnya irigasi dalam perawatan saluran akar tidak terlepas dari jenis bahan irigasi. Bahan irigasi yang ideal seharusnya memiliki efek antibakteri dengan spektrum luas, tidak toksik, mampu melarutkan sisa jaringan pulpa nekrotik, mencegah terbentuknya *smear layer* selama preparasi saluran akar atau mampu melarutkannya segera setelah terbentuk (Ghorbanzadeh *et al.*, 2015; Zehnder, 2006; Hargreaves *et al.*, 2016). Namun dari berbagai penelitian yang telah dilakukan, belum ada senyawa bahan irigasi yang dapat memenuhi kriteria ideal tersebut.

2. 1.1 Sodium Hipoklorit (NaOCl)

Sodium hipoklorit adalah bahan irigasi yang paling umum digunakan karena memiliki kapasitas antibakteri dan kemampuan untuk melarutkan jaringan

nekrotik, jaringan pulpa vital, dan komponen organik dari dentin dan biofilm secara cepat. Bahan ini telah digunakan sejak tahun 1789 pada perang dunia I untuk mengobati luka, dan tahun 1919 diperkenalkan oleh Coolidge sebagai irigasi saluran akar (Hargreaves *et al.*, 2016; Siqueira, 2011). Sodium hipoklorit memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas, dapat membunuh bakteri pembentuk spora dan vegetatif, fungi, protozoa, dan virus dengan cepat. Mekanisme antibakteri NaOCl adalah menginduksi oksidasi golongan sulfhidril enzim-enzim bakteri esensial secara reversibel, membentuk ikatan disulfida dan mengganggu aktivitas metabolik sel-sel bakteri. NaOCl juga memiliki efek fatal bagi DNA bakteri dengan memicu pembentukan derivat klorinasi basah nukleotida (reaksi kloraminasi) (Siqueira, 2011; Hargreaves *et al.*, 2016).

Terdapat kontroversi mengenai konsentrasi NaOCl yang disarankan untuk perawatan saluran akar. Konsentrasi NaOCl yang direkomendasikan adalah 0,5%-6% (Hargreaves *et al.*, 2016; Siqueira, 2011). Beberapa penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa larutan 5,25% NaOCl mampu mematikan bakteri *Enterococcus faecalis* dalam waktu 30 detik dan sel jamur dalam waktu 15 detik, dibandingkan dengan waktu 10-30 menit yang diperlukan oleh larutan NaOCl 2,5% dan 0,5%. Sodium hipoklorit di konsentrasi yang lebih tinggi memiliki efek antibakteri dan kemampuan melarutkan jaringan yang lebih baik. Namun, dalam konsentrasi yang lebih rendah ketika digunakan dalam volume tinggi dan interval yang sering memiliki efektivitas yang sama (Retamozo *et al.*, 2010; Hargreaves *et al.*, 2016; Siqueira, 2011; Radcliffe *et al.*, 2004). Efektivitas NaOCl pada konsentrasi tinggi sudah terbukti dalam beberapa penelitian, namun pada

konsentrasi tersebut NaOCl bersifat toksik terhadap jaringan dan menyebabkan kerusakan sel ketika NaOCl ekstrusi ke apikal serta dapat menyebabkan inflamasi gingiva, selain itu kelemahan NaOCl adalah bau dan rasa yang tidak sedap (Paul, 2014; Agrawal, 2014; Hargreaves *et al.*, 2016; Vianna *et al.*, 2004).

2.1.2 Klorheksidin (CHX)

Klorheksidin (CHX) telah digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar lebih dari satu dekade. Pertama kali dikembangkan di Inggris untuk tujuan desinfeksi umum, perawatan infeksi kulit, mata, dan tenggorokan pada manusia dan hewan (Hargreaves *et al.*, 2016). Klorheksidin banyak digunakan sebagai substansi antibakteri dalam produk-produk antiseptik, terutama dalam sabun tangan dan larutan kumur, namun juga sebagai desinfektan dan pengawet. Klorheksidin juga memiliki substantivitas antibakteri dalam dentin dan menimbulkan iritasi ringan pada jaringan hidup (Siqueira, 2011). Klorheksidin bersifat bakteristatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Konsentrasi yang digunakan sebagai penghilang plak di rongga mulut adalah 0,2%-1%, sedangkan untuk irigasi saluran akar direkomendasikan menggunakan konsentrasi 2%. Meskipun dapat memicu kerusakan pada lapisan luar sel bakteri, biasanya efek tersebut tidak cukup untuk menyebabkan lisis atau kematian sel. Pada konsentrasi tinggi, CHX menyebabkan pengendapan kandungan intraseluler, terutama komponen fosfat, seperti adenosin trifosfat dan asam nukleat (Siqueira, 2011; Paul, 2014). Meskipun memiliki sifat antibakteri dan biasa digunakan sebagai irigasi akhir, CHX tidak dapat dijadikan sebagai irigasi utama pada perawatan

saluran akar dikarenakan tidak mampu melarutkan sisa jaringan nekrotik dan kurang efektif pada bakteri gram negatif (Paul, 2014).

2.2 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis merupakan bakteri anaerob gram positif, non-motil, non-spora, fermentatif, fakultatif dan termasuk dalam spesies *enterococci*. Bakteri ini adalah salah satu bakteri nosokomial dengan strain yang resisten terhadap antibiotik (Nair *et al.*, 2018). Prevalensi *Enterococcus faecalis* sangat tinggi pada infeksi endodontik yang persisten dan asimtomatik. Bakteri ini memainkan peran penting dalam menyebabkan lesi periradikuler persisten (Nair *et al.*, 2018). Fakta bahwa *Enterococcus faecalis* sering ditemukan pada gigi yang dirawat beberapa kali kunjungan atau dibiarkan terbuka untuk keperluan drainase, menunjukkan bahwa spesies ini adalah penginvansi sekunder yang mampu berkoloni di dalam saluran akar dan bertahan dari perawatan (Siqueira, 2011). Biofilm merupakan salah satu penyebab *Enterococcus faecalis* resisten terhadap bahan antibakteri yang memungkinkan bakteri ini menjadi 1000 kali lebih resisten terhadap antibodi, antibakteri, dan fagositosis (Rochyani, 2019). Bakteri ini dapat memperoleh akses ke sistem saluran akar selama pengobatan, diantara kunjungan atau bahkan setelah perawatan selesai (Nair *et al.*, 2018). Karakteristik *Enterococcus faecalis* yang membuat keberadaannya banyak dalam saluran akar antara lain kemampuan membentuk biofilm, berpenetrasi ke tubulus dentinalis, bertahan pada kondisi pH yang tinggi dan tidak bergantung dari nutrisi bakteri lain (Siqueira, 2011).

2.3 Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Moringa oleifera adalah sejenis pohon berkayu yang digunakan sebagai sumber nutrisi dan sebagai tanaman obat. Tumbuh liar di daerah tropis dan subtropis di Asia, Afrika dan Timur Tengah. Sebagai tanaman nutrisi dan obat, *Moringa oleifera* merupakan sumber yang kaya senyawa bioaktif dengan aktivitas farmakologis yang beragam. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa daun, bunga, kulit kayu, akar, biji, dan hampir semua jenis jaringan *Moringa oleifera* menunjukkan aktivitas antibakteri termasuk aktivitas antijamur, antivirus dan antiparasit (Wang, Chen & Wu, 2016).

Menurut Tilong (2012), kedudukan taksonomi tanaman kelor (*Moringa oleifera*) adalah:

Kerajaan : *Plantae*
Sub kerajaan: *Tracheobionta*
Superdivisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Dilleniidae*
Bangsa : *Capparales*
Suku : *Moringaceae*
Genus : *Moringa*
Spesies : *Moringa oleifera*



Gambar 2.1. Daun kelor
Sumber : Dani, Wahidah & Syaifudin., Etnobotani Tanaman Kelor
(*Moringa oleifera Lam.*) di Desa Kedungbulus Gembong Pati, 2019.
(Dhea Dani, Wahidah and Syaifudin, 2019)

2.3.1 Morfologi Kelor

Tanaman kelor merupakan tanaman yang diperkirakan berasal dari Agra dan Oudh yang terletak di Barat Laut India, wilayah pegunungan Himalaya bagian Selatan yang kemudian terdistribusikan ke Filipina, Kamboja, Amerika Tengah, Amerika Utara dan Selatan serta kepulauan Karibia (Risna, 2020). Kelor termasuk jenis tumbuhan perdu berumur panjang berupa semak atau pohon dengan ketinggian 7-12 meter. Batangnya berkayu, tegak, berwarna putih buram, berkulit tipis dan mudah patah, serta cenderung tumbuh lurus dan memanjang. Daun kelor biasanya berbentuk bulat telur dengan tepi daun rata dan ukurannya kecil-kecil bersusun majemuk dalam satu tangkai. Bentuk ujung daun ada yang tumpul, runcing dan berlekuk. Warna daun adalah hijau tua, hijau muda, hijau kekuningan tergantung dari umur tanaman kelor itu sendiri. Bunga kelor muncul di daun, beraroma khas dan berwarna putih kekuningan. Buah kelor berbentuk segitiga dengan panjang sekitar 20-60 cm dan berwarna hijau. Kelor berakar tunggang, berwarna putih, berbentuk seperti lobak, berbau tajam dan berasa pedas. Tanaman

ini dapat hidup pada temperatur 19°C hingga 28°C, dan dapat dibudidayakan di seluruh dataran (Mallenakuppe *et al.*, 2019; Tilong, 2012; Auliya, Saptadi & Kuswanto, 2019).

2.2.2 Kandungan daun kelor

Kelor merupakan tanaman yang sering disebut *the miracle tree* karena mampu menyelesaikan masalah kekurangan gizi, serta mencegah dan mengobati berbagai penyakit (Akbar *et al.*, 2019). Tanaman kelor merupakan salah satu tanaman yang seluruh bagiannya mulai dari akar, kulit batang, biji, buah dan daun memiliki manfaat, telah banyak digunakan dalam pengobatan penyakit tertentu sebagai ramuan obat tradisional. Analisis fitokimia lebih lanjut mengungkapkan bahwa kandungan ekstrak *Moringa oleifera* sebagai efek antibakteri yaitu saponin, flavonoid, tanin dan alkaloid (Patil & Rasika, 2013; Wang, Chen & Wu, 2016). Daun kelor mengandung saponin yang mempunyai mekanisme antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga meningkatkan permeabilitas atau kebocoran sel bakteri dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Podolak, Galanty & Sobolewska, 2010; Arabski *et al.*, 2012). Senyawa kimia lain yang dimiliki daun kelor adalah flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut melalui ikatan hidrogen sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Xie *et al.*, 2015; Ganatra *et al.*, 2012; Nuria, 2009).

Senyawa tanin termasuk senyawa fenol dengan berat molekul besar, terdiri dari gugus hidroksil dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk

membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah dapat menghambat sintesis protein untuk pembentukan dinding sel dan mengecilkan dinding sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel dan menyebabkan kematian (Akiyama *et al.*, 2001). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan antibakteri dimana mereka mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri sehingga tidak terbentuk lapisan dinding sel yang utuh dan menyebabkan kematian sel (Cushnie, Cushnie & Lamb, 2014).

2.4 Nanopartikel

Nanoteknologi dan *nanoscience* merujuk pada manipulasi bahan pada skala atomik, molekuler, dan supramolekuler. Penelitian nanoteknologi dan *nanoscience* melibatkan penelitian yang berhubungan dengan aplikasinya pada berbagai cabang pengetahuan meliputi kimia, biologi, fisika, ilmu bahan, dan teknik (Riad & Ibrahim, 2021).

Perkembangan produk nanoteknologi terus meningkat beberapa tahun terakhir ini. Nanoteknologi diantaranya yaitu ukuran partikel yang lebih kecil sehingga memiliki sifat yang khas dibandingkan dengan ukuran partikel yang lebih besar dan fleksibel jika dikombinasikan dengan teknologi lain, meningkatkan kelarutan, dan meningkatkan penyerapan dalam tubuh (Ningsih *et al.*, 2017). Nanopartikel yang secara definisi adalah struktur yang memiliki dimensi ukuran dalam kisaran 1-100 nm semakin diakui dalam aplikasi perawatan kesehatan medis. Ukuran partikel yang lebih kecil, maka luas permukaan akan meningkat. Permukaan yang lebih luas akan memungkinkan interaksi yang lebih besar

sehingga dapat meningkatkan kelarutan. Nanopartikel merupakan salah satu strategi untuk meningkatkan bioavailabilitas senyawa aktif herbal (Syahrial *et al.*, 2019; Chari, 2020).

Implementasi teknologi nano dalam dunia kedokteran gigi sudah banyak dikembangkan, salah satu contoh penggunaan di bidang endodontik adalah *sealer* nanomaterial berbasis biokeramik (*Endo Sequence BC Sealer*, Brasseler USA) yang terdiri dari nanopartikel kalsium silikat, kalsium hidroksida, kap dan zirconia, dengan penambahan agen pengental. Penggunaan nanopartikel meningkatkan perlekatan ke iregularitas berukuran nano, selain memiliki *setting time* yang cepat dibandingkan *sealer* konvensional, stabilitas dimensi, ketidaklarutan dalam cairan jaringan, ikatan kimia ke jaringan gigi, dan sifat oseokonduktivitas. Ketika mengeras, bahan ini membentuk hidroksiapatit, yang tidak hanya menunjukkan biokompatibilitas dan biaktivitas yang sangat baik, tetapi juga sifat antibakteri yang sangat baik pada pH alkalin tinggi 12,8 (Al-Haddad *et al.*, 2016; Riad & Ibrahim, 2021).

Nanopartikel saat diimplementasikan pada bahan yang memiliki sifat antibakteri, menjadikan bahan tersebut dapat berkontak dengan membran sel bakteri dan menyebabkan gangguan pada dinding sel. Kerusakan pada membran sel bakteri merusak transmembran dan transportasi elektron, mencegah replikasi DNA dan menyebabkan kerusakan, terhentinya aktivitas sel, kematian sel, dan gangguan pada berbagai organel sel (Riad & Ibrahim, 2021).

2.5 Metode *Total Plate Count*

Teknik penghitungan jumlah koloni bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu *Total Plate Count* atau *Standard Plate Count*, *Most Probable Number* (MPN), pewarnaan asam nukleat dengan penghitungan mikroskop dan *quantitative Polymerase Chain reaction* (qPCR atau RT-PCR) (Jiang *et al.*, 2018). *Total Plate Count* (TPC) adalah metode perhitungan jumlah bakteri yang didasarkan pada jumlah bakteri yang hidup (Satriyo, Suheri & Yugianus, 2009). Prinsip metode ini adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada medium, kemudian mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung, selanjutnya akan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Nunik & Junianto, 2012).

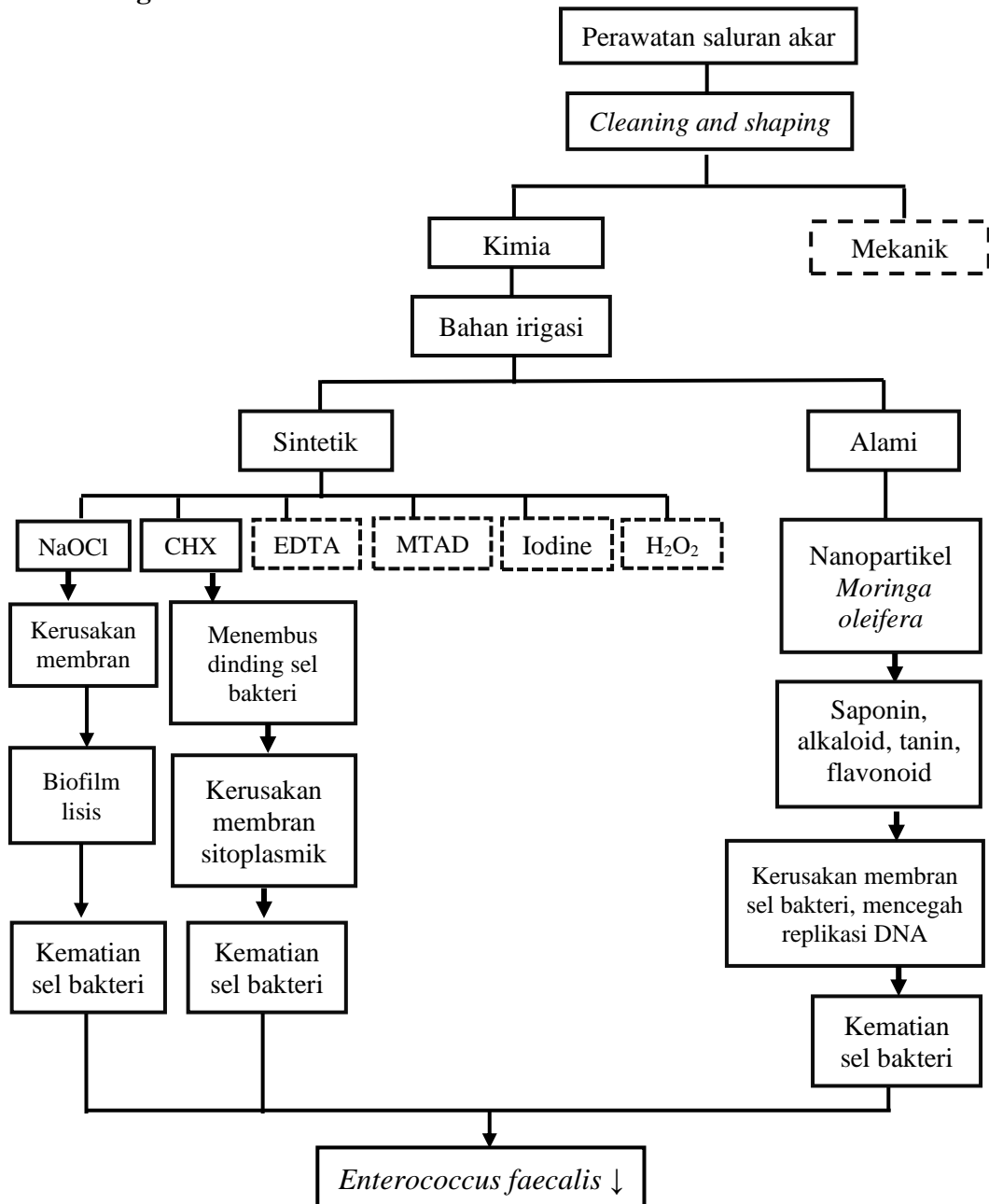
Metode TPC dibagi atas dua, yaitu *pour plate* dan *spread plate*. *Pour plate* adalah teknik menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar dengan cara mencampurkan media agar yang masih cair dengan stok kultur bakteri sehingga sel-sel tersebut tersebar merata di permukaan atau di dalam agar, sedangkan metode *spread plate* digunakan untuk memisahkan mikroorganisme yang terkandung dalam volume sampel kecil, yang tersebar di permukaan cawan agar. Metode *Total Plate Count* yang banyak digunakan adalah *spread plate* karena lebih mudah dan dapat menghitung beberapa koloni sekaligus serta dapat untuk identifikasi bakteri. Metode ini paling sensitif dalam menentukan jumlah mikroorganisme karena memiliki kelebihan diantaranya adalah hanya sel yang masih hidup yang dihitung, beberapa jenis bakteri dapat dihitung sekaligus, dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri karena koloni yang terbentuk berasal dari satu sel bakteri dengan

penampakan bakteri yang spesifik. Kelemahan dari metode ini hanya dapat menghitung sekitar 25-250 CFU, serta kemungkinan terkontaminasi dengan bakteri lainnya (Sutton, 2011).

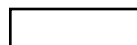
BAB III

KERANGKA PENELITIAN DAN HIPOTESIS

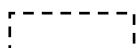
3.1 Kerangka Teori



Keterangan

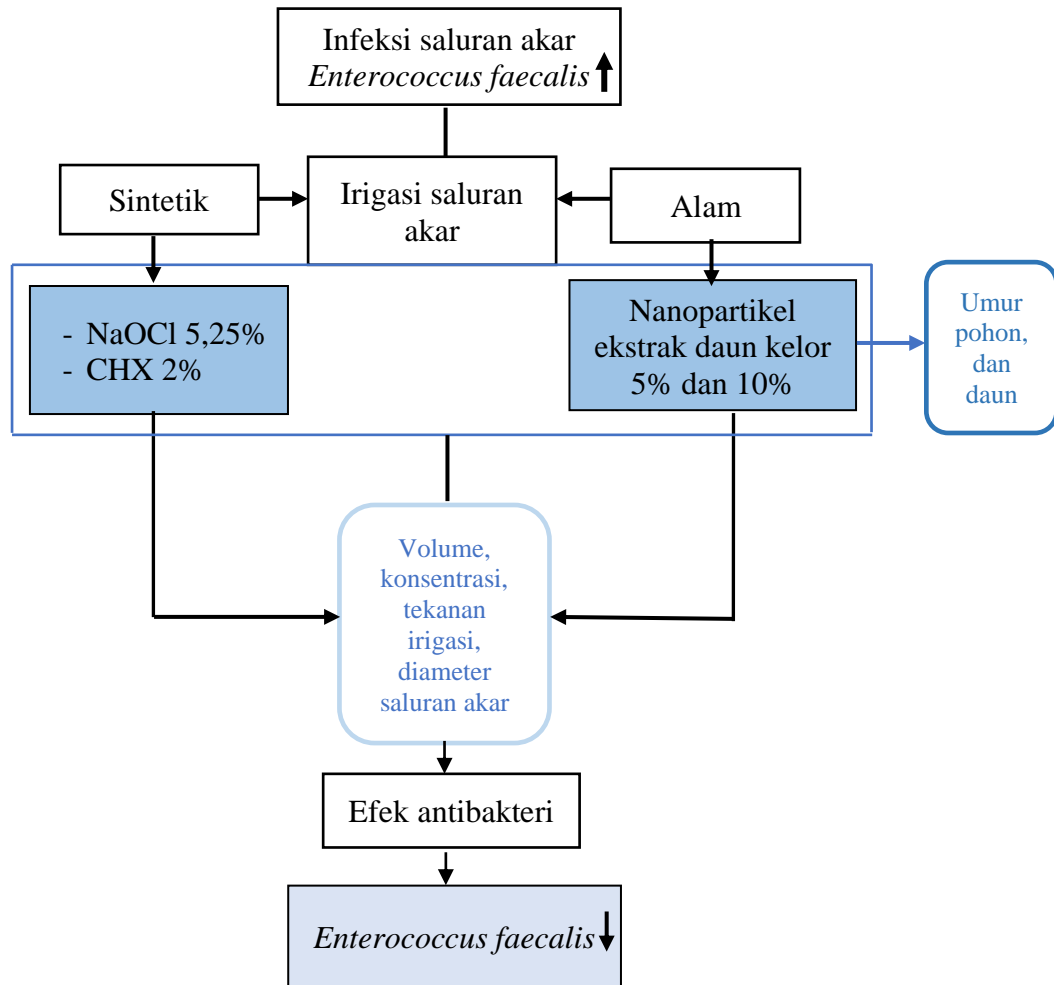


Variabel yang diteliti







Variabel yang tidak diteliti

3.2 Kerangka Konsep



Keterangan

-  Variabel independen
-  Variabel dependen
-  Variabel kendali
-  Variabel random

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% memiliki efek antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*.
2. Efektivitas antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% terhadap *Enterococcus faecalis* lebih baik dibandingkan NaOCl 5,25%.
3. Efektivitas antibakteri nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) konsentrasi 5% dan 10% terhadap *Enterococcus faecalis* lebih baik dibandingkan CHX 2%.

3.4 Keterbatasan Penelitian

1. Dalam penelitian ini tidak dilakukan ekstraksi senyawa fitokimia antibakteri yang terkandung pada nanopartikel ekstrak daun kelor.
2. Pengambilan daun kelor dilakukan secara acak, tanpa memperhatikan umur pohon dan daun.