

Korespondensi:

rina.dentist@gmail.com
stievenrey@gmail.com
akomariah67@gmail.com

The effect of toothpaste with nanocalcium and nanochitosan on oral cavity microorganism (in vivo)

Octarina

Department of Dental Material, Faculty of Dentistry Trisakti University

Stieven Rey

Undergraduated Program, Faculty of Dentistry Trisakti University

Komariah

Department of Histology, Faculty of Dentistry Trisakti University

Abstract

Mangrove crab shell and horn beetle can be modified into nanocalcium and nanochitosan. Nanocalcium has an effect to remineralize the tooth surface, while the nanochitosan act as an antibacterial. The purpose of this study was to determine the number of microorganism after brushing with toothpaste which containing nanocalcium and nanochitosan. In this study, toothpaste was made with nanocalcium and nanochitosan with three formulations i.e. 25% nanocalcium + 3gr nanochitosan, 55% nanocalcium + 3gr nanochitosan, and 75% nanocalcium + 3gr nanochitosan. The sample of toothpaste is tested on 25 primary school children (8-9 years old) and divided into five treatments: 25% nanocalcium + 3gr nanochitosan (K1), 55% nanocalcium + 3gr nanochitosan (K2), and 75% nanocalcium + 3gr nanochitosan (K3), commercial toothpaste (K4), and without toothpaste (K5). The result of gargling was taken before and after tooth brushing. This study used TPC test with diffusion method that embedded in sodium agar which counting the decrease of oral microorganism. The data is processed using repeated ANOVA. The result of counting microorganism for five treatments before tooth brushing respectively were $K1 = 1610.4 \pm 1380.59$, $K2 = 979 \pm 675.46$, $K3 = 1275.8 \pm 809.99$, $K4 = 550 \pm 840.37$, $K5 = 1086.8 \pm 840.37$ and after the treatments were $K1 = 142 \pm 191.36$, $K2 = 102.8 \pm 118.55$, $K3 = 161.4 \pm 122.26$, $K4 = 197 \pm 210.64$, $K5 = 88.8 \pm 20.66$ ($p < 0.05$). The conclusion, there is a decrease of microorganism in the oral cavity after tooth brushing. The toothpaste that containing nanocalcium and nanochitosan shows more effectively to inhibit microorganism in oral cavity than commercial toothpaste.

Keywords: nanocalcium, nanochitosan, toothpaste, microorganism

Efek pasta gigi dengan nanokalsium dan nanokitosan terhadap bakteri dalam rongga mulut (*in vivo*)

Abstrak

Cangkang kepiting bakau dan kumbang tanduk dapat dimodifikasi menjadi nanokalsium dan nanokitosan. Nanokalsium berfungsi untuk meremineralisasi permukaan gigi, sedangkan nanokitosan sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui jumlah mikroorganisme setelah penyikatan dengan pasta gigi yang mengandung nanokalsium dan nanokitosan. Pada penelitian ini, dibuat pasta gigi berbahan dasar nanokalsium dan nanokitosan dengan tiga formulasi yaitu 25% nanokalsium + 3gr nanokitosan, 50% nanokalsium + 3gr nanokitosan, dan 75% nanokalsium + 3gr nanokitosan. Pasta gigi tersebut, diuji pada 25 anak (usia 8-9 tahun) yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu 25% nanokalsium + 3gr nanokitosan (K1), 50% nanokalsium + 3gr nanokitosan (K2), dan 75% nanokalsium + 3gr nanokitosan (K3), pasta gigi komersil (K4), dan tanpa pasta gigi (K5). Hasil dari kumuran diambil sebelum dan sesudah penyikatan gigi. Penelitian ini menggunakan uji TPC dengan metode difusi dimana hasil kumuran ditanam pada natrium agar kemudian dihitung jumlah penurunan mikroorganisme dalam rongga mulut. Data tersebut diolah menggunakan *repeated* ANOVA. Hasil sebelum dilakukan penyikatan gigi secara berurutan yaitu K1 = $1.610,4 \pm 1.380,59$, K2 = $979 \pm 675,46$, K3 = $1.275,8 \pm 809,99$, K4 = $550 \pm 840,37$, K5 = $1.086,8 \pm 840,37$ dan sesudah penyikatan adalah K1 = $142 \pm 191,36$, K2 = $102,8 \pm 118,55$, K3 = $161,4 \pm 122,26$, K4 = $197 \pm 210,64$, K5 = $88,8 \pm 20,66$, $p < 0,05$ Kesimpulannya, terdapat penurunan mikroorganisme setelah dilakukan penyikatan gigi. Pasta gigi dengan kandungan nanokalsium dan nanokitosan memberikan hasil lebih baik dalam menghambat mikroorganisme pada rongga mulut jika dibandingkan dengan pasta gigi komersil.

Kata kunci : nanokalsium, nanokitosan, pasta gigi, mikroorganisme

Pendahuluan

Kalsium merupakan salah satu nutrisi esensial yang sangat dibutuhkan untuk berbagai fungsi tubuh¹. Salah satu fungsi kalsium bagi tubuh adalah sebagai nutrisi untuk tumbuh, menunjang perkembangan fungsi motorik agar lebih optimal dan berkembang dengan baik. Setiap orang memerlukan kalsium sebanyak 800 mg/hari.

Kekurangan kalsium pada masa pertumbuhan dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan tulang, osteoporosis, osteomalasia², keluhan pada tulang, gigi, darah, syaraf, dan metabolisme tubuh³.

Saat ini, kitosan digunakan di dalam bidang pengobatan karena sifatnya yang tidak toksik dan juga mempunyai kemampuan biodegradasi dan biokompatibilitas serta stabilitas yang baik⁷. Kitosan di dalam

bidang kedokteran gigi memiliki fungsi sebagai antibakteri dalam membunuh mikroorganisme yang ada di dalam rongga mulut. Selain digunakan sebagai bahan antibakteri, kitosan juga dapat digunakan sebagai bahan preservasi⁴ dan mampu mempercepat proses penyembuhan luka dengan sifatnya yang mampu meningkatkan proliferasi sel fibroblast⁶. Modifikasi fisik dengan teknologi nano mengubah kalsium dan kitosan menjadi nanokalsium dan nanokitosan dengan ukuran partikel menjadi sangat kecil (10-1000nm) sehingga dapat terserap oleh tubuh lebih optimal dan efisien.

Karies adalah kerusakan pada struktur jaringan keras gigi (email, dentin) yang diakibatkan oleh asam yang dihasilkan oleh bakteri yang terdapat pada plak gigi. Salah satu cara untuk mencegah karies adalah dengan menyikat gigi dengan menggunakan pasta gigi.. Pasta gigi digunakan untuk membersihkan gigi dari sisa makanan, menghilangkan plak dan bau mulut, sehingga gigi dan rongga mulut tetap sehat dan tampak bersih. Kandungan utama pasta gigi antara lain bahan abrasif, bahan penggosok, *humectant*, *fluoride*, pemutih gigi, air, bahan pemberi rasa, bahan pemanis, bahan pengikat, dan bahan pembuat busa⁸.

Uji TPC (*Total Plate Count*) merupakan suatu metode untuk menguji dan menganalisis cemaran mikroba dengan menggunakan metode pengenceran dan metode cawan tuang. Media yang digunakan pada metode ini adalah media penyubur (nutrient agar)⁹. Uji TPC ini dapat dilakukan pada hasil kumuran dari rongga mulut untuk mengetahui jumlah mikroorganisme yang ada.

Sifat-sifat yang baik pada nanokalsium dan nanokitosan digabungkan pada komposisi utama pasta gigi sehingga diharapkan menghasilkan suatu pasta gigi yang lebih efektif menghilangkan mikroorganisme dalam rongga mulut. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk membuat pasta gigi dengan kandungan nanokalsium dan nanokitosan akan mempengaruhi jumlah mikroorganisme yang ada dalam rongga mulut pada anak SD usia 8-9 tahun

Bahan dan metode

Pembuatan Pasta Gigi

Cangkang keping bakau dan kumbang tanduk digunakan sebagai bahan dasar dari pembuatan kalsium dan kitosan melalui proses ekstraksi. Kalsium dan kitosan yang dihasilkan kemudian dimodifikasi menjadi nanokalsium dan nanokitosan. Pembuatan pasta gigi dilakukan dengan mencampurkan komposisi bahan sebagai berikut: kalsium karbonat, natrium karbonat, natrium fluorida, sakarin, gliserin, gum arab, air aquades, minyak peppermint, serta nanokalsium (konsentrasi 25%, 50% dan 75%) dan 3 gr nanokitosan.

Uji Total Plate Count (TPC)

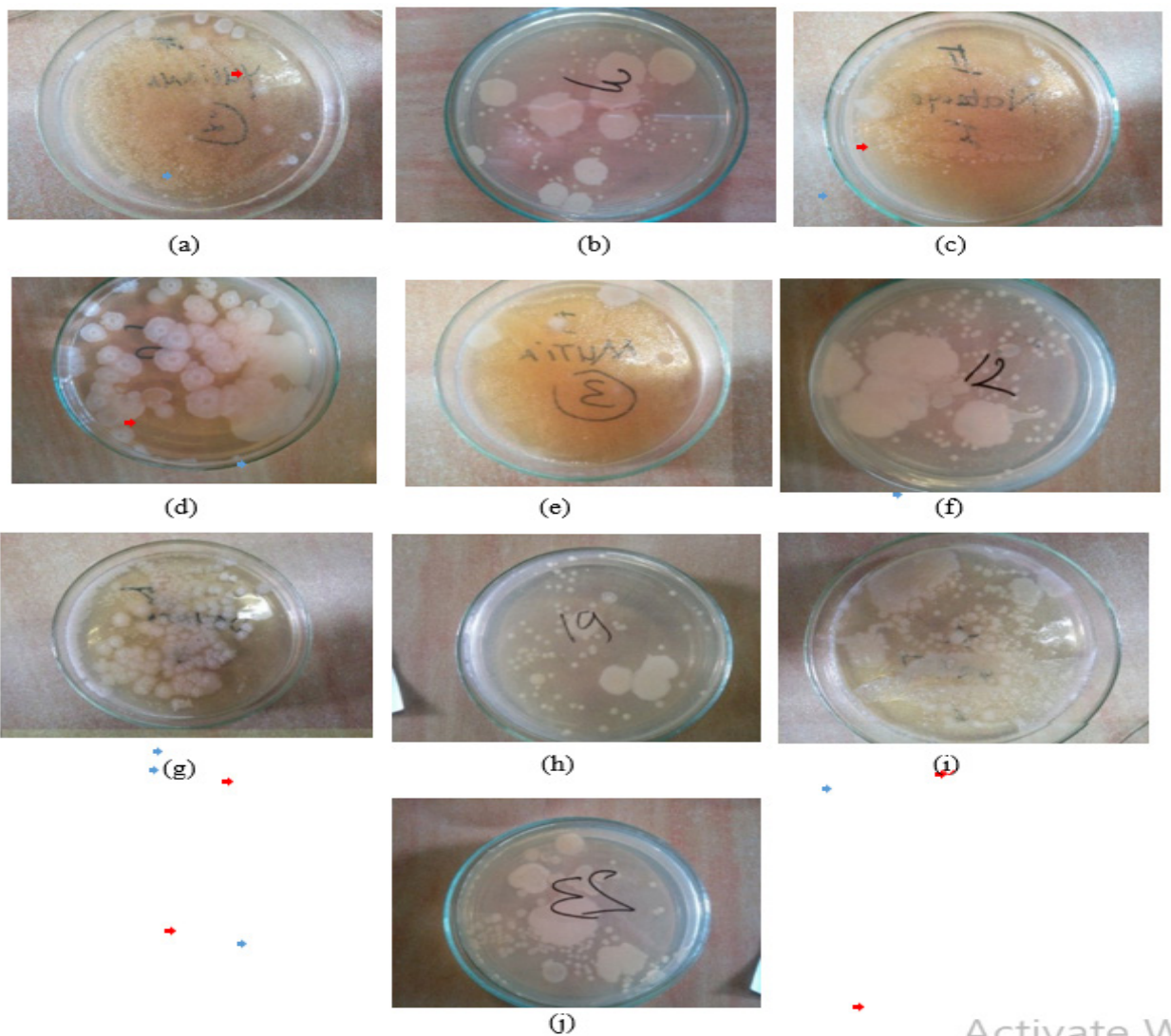
Sebanyak 25 orang anak SDN 07 Grogol-petamburan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 (K1): Pasta gigi nanokalsium 25% + nanokitosan 3 gr; Kelompok 2 (K2): Pasta gigi nanokalsium 50% + nanokitosan 3 gr; Kelompok 3 (K3): Pasta gigi nanokalsium 75% + nanokitosan 3 gr; Kelompok 4 (K4): Pasta gigi komersial; Kelompok 5 (K5): tanpa pasta gigi. Penelitian dilakukan selama dua hari berturut-turut pada jam dan anak yang sama. Penelitian pada hari pertama mengambil hasil kumuran 25 anak SD sebelum dilakukan penyikatan gigi. Penelitian hari kedua sebanyak 25 anak SD dibagi 5 kelompok, kemudian melakukan penyikatan gigi sesuai dengan kelompok dan diambil hasil kumurannya setelah penyikatan gigi. Uji TPC dilakukan pada hasil kumuran. Hasil kumuran yang didapat diambil sebanyak 1cc kemudian ditanam pada media agar untuk dilakukan analisis serta penghitungan mikroorganisme yang terdapat dalam rongga mulut.

Hasil penelitian

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan tiga buah pasta gigi dengan formula sebagai berikut: pasta gigi dengan konsentrasi 25% nanokalsium + 3 gr nanokitosan (gambar 1a); pasta gigi dengan konsentrasi 50% nanokalsium +



Gambar 1. Pasta gigi nanokalsium + nanokitosan (a) 25% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (b) 50% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (c) 75% nanokalsium + 3 gr nanokitosan.



Gambar 2. Hasil uji TPC dengan penyikatan (a) sebelum sikat gigi 25% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (b) setelah sikat gigi 25% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (c) sebelum sikat gigi 50% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (d) setelah sikat gigi 50% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (e) sebelum sikat gigi 75% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (f) setelah sikat gigi 75% nanokalsium + 3 gr nanokitosan ; (g) sebelum sikat gigi dengan pasta gigi komersil ; (h) setelah sikat gigi dengan pasta gigi komersil ; (i) sebelum sikat gigi tanpa pasta gigi ; (j) setelah sikat gigi tanpa pasta gigi ; panah biru = bakteri ; panah merah = jamur.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi uji TPC pada formulasi pasta gigi yang berbeda dengan analisis statistik menggunakan repeated anova - post hoc bonferroni.

Kelompok perlakuan	Mean \pm SD (CFU)		p
	Sebelum sikat Gigi	Sesudah sikat gigi	
K1	1.610,4 \pm 1.380,59	142 \pm 191,36	0,000
K2	979 \pm 675,46	102,8 \pm 118,55	0,000
K3	1.275,8 \pm 809,99	161,4 \pm 122,26	0,000
K4	550 \pm 254,12	197 \pm 210,64	0,000
K5	1.086,8 \pm 840,37	88,8 \pm 20,66	0,000

Ket: K1 = pasta gigi nanokalsium 25% + nanokitosan 3gr; K2 = pasta gigi nanokalsium 50% + nanokitosan 3gr; K3 = pasta gigi nanokalsium 75% + nanokitosan 3gr; K4 = pasta gigi komersil; K5 = penyikatan tanpa pasta gigi (p<0,05 ada perbedaan bermakna)

3 gr nanokitosan (gambar 1b); pasta gigi dengan konsentrasi 75% nanokalsium + 3 gr nanokitosan (gambar 1c). Besar konsentrasi nanokalsium dan nanokitosan yang digunakan dalam pembuatan pasta gigi ini diambil berdasarkan jumlah volume sesuai masing-masing formulasi.

Ketiga hasil formulasi pasta gigi tersebut diujikan kepada 25 anak SDN 07 (Grogol – Petamburan). Terdapat lima kelompok perlakuan yaitu: K1: sikat gigi dengan konsentrasi 25% nanokalsium + 3 gr nanokitosan, K2 : sikat gigi dengan konsentrasi 50% nanokalsium + 3 gr nanokitosan, K3 : sikat gigi dengan konsentrasi 75% nanokalsium + 3 gr nanokitosan, K4 : sikat gigi dengan pasta gigi komersial, dan K5: sikat gigi tanpa menggunakan pasta gigi. Hasil kumuran sebelum dan sesudah penyikatan ditampung pada wadah steril untuk dilakukan uji TPC. Berikut hasil dari kelima perlakuan yang sudah dilakukan penanaman pada medium natrium agar.

Pembahasan

Hasil uji TPC yang dilakukan pada 25 orang anak SD menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah mikroorganisme dalam rongga mulut pada setiap perlakuan setelah dilakukan penyikatan (tabel 1). Penyikatan dapat menurunkan jumlah mikroorganisme dalam rongga mulut karena penyikatan dapat membersihkan serta menghilangkan sebagian debris dan plak yang menempel pada gigi.

Pada sikat gigi dengan konsentrasi 25% nanokalsium + 3 gr nanokitosan (K1), 50% nanokalsium + 3 gr nanokitosan (K2), 75% nanokalsium + 3 gr nanokitosan didapatkan hasil penurunan jumlah mikroorganisme setelah dilakukan penyikatan ($p < 0,05$). Hal ini bisa terjadi karena adanya efek antibakteri yang terkandung di dalam nanokitosan. Kitosan (2-amino-deoksi- β -D-glukosa) merupakan polimer kationik alami yang bersifat nontoksik, dapat mengalami biodegradasi dan bersifat biokompatibel. Kitosan memiliki kegunaan yang sangat luas dalam kehidupan sehari-hari misalnya sebagai adsorben limbah logam berat dan zat warna, antijamur, kosmetik, farmasi, flokulan, antikanker, dan antibakteri¹¹. Kitosan diperoleh melalui beberapa tahapan proses yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi dan deasetilasi dari cangkang kumbang tanduk sehingga diperoleh kitosan. Isolasi kitosan dari sumber alam dan kajian sifat antibakteri kitosan telah banyak dilakukan dalam penelitian sebelumnya¹⁰. Seperti diketahui kitosan memiliki gugus amino (NH_2) yang akan menjadi ammonium (NH_3^+) dalam medium asam. Muatan ion positif ini yang akan berinteraksi dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri, baik gram positif maupun gram negatif¹¹.

Pasta gigi komersial merupakan perlakuan yang keempat. Penggunaan pasta gigi ini juga mengurangi pertumbuhan mikroorganisme dalam rongga mulut (tabel 1)

dengan $p < 0,05$. Kandungan yang terdapat di dalam pasta gigi komersil antara lain *calcium carbonate*, erythritol, gliserin, air, SLS, PEG-8, PEG-5M, PEG-20 hydrogenated castor oil, silica, flavor, sodium monofluorophosphate, carrageenan, hydroxyethylcellulose, sodium saccharin, dipotassiumglycyrrhizinate, carylic/capric triglyceride, o-cymen-5-ol (IPMP), methylparaben, dan butylparaben¹².

Pasta gigi ini memiliki kandungan nanokalsium, erythritol yang mengurangi plak di gigi secara efektif lebih cepat dibandingkan pasta gigi biasa serta *micro foam* yaitu busa-busa berukuran mikro mempercepat penyebaran nanokalsium dan erythritol hingga sela-sela gigi, untuk mulut bersih, tetap sehat dan terlindungi secara menyeluruh dari gigi berlubang¹¹.

Perlakuan terakhir adalah penyikatan tanpa penggunaan pasta gigi (K5). Pada perlakuan ini juga didapati penurunan mikroorganisme ($p < 0,05$). Hal ini dapat terjadi karena pengambilan kumur secara langsung / sesegera mungkin (tanpa jeda waktu) serta adanya pengaruh derajat keasaman dalam rongga mulut setelah penyikatan. Setelah dilakukan penyikatan gigi menggunakan pasta gigi, pH saliva dalam rongga mulut akan menurun / berubah menjadi asam. Menurut penelitian mengenai tingkat pH serta pertumbuhan bakteri dalam rongga mulut, pH dalam rongga mulut akan mengalami penurunan setelah penyikatan gigi dan akan kembali berangsur normal setelah 15-30 menit baru setelah terjadi remineralisasi dan terjadinya penurunan mikroorganisme dalam rongga mulut. Bisa dikatakan bahwa penurunan mikroorganisme baru akan terjadi setelah 15-30 menit setelah penyikatan¹².

Hasil yang didapat setelah dilakukan penelitian menggunakan metode uji TPC menunjukan hasil bahwa efek yang terkandung di dalam kitosan hanya dapat menekan pertumbuhan bakteri sehingga terjadi penurunan. Hal ini terlihat bahwa terdapat penurunan jumlah bakteri pada lempeng agar namun sebaliknya terdapat efek samping pada kitosan yang ditandai dengan adanya pertumbuhan jamur setelah

penggunaan pasta gigi yang mengandung nanokalsium dan nanokitosan. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa dibutuhkan bahan tambahan lain yang dapat dikombinasikan untuk menekan pertumbuhan jamur sehingga dapat menurunkan pertumbuhan mikroorganisme yang terdapat pada rongga mulut.

Kesimpulan dan saran

Pemanfaatan nano teknologi dengan mengolah cangkang kepiting bakau menjadi nanokalsium dan cangkang kumbang tanduk menjadi nanokitosan dapat digunakan sebagai komposisi tambahan pada pembuatan pasta gigi. Komposisi tambahan ini dapat berfungsi sebagai bahan remineralisasi dan antibakteri yang mudah diserap oleh tubuh karena ukuran nanonya yang sangat kecil. Penyikatan dengan pasta gigi ini dapat menurunkan jumlah mikroorganisme dalam rongga mulut.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas serta komposisi nanokalsium dan nanokitosan dalam pembuatan pasta gigi agar mendapatkan hasil yang lebih optimal. Perlu diperhitungkan pengukuran jangka waktu setelah penyikatan pasta gigi untuk mengetahui dampak dari penurunan mikroorganisme.

Daftar pustaka

1. Gobinathan P, Murali PV, Panneerselvam R. Interactive Effects of Calcium Chloride on Salinity-Induced Proline Metabolism in *Pennisetum typoides* Advances in Biological Research 3(5-6).2009:168-173
2. Nieves JW. Osteoporosis: the role of micronutrient. The American Journal of Clinical Nutrition. 2005 ; 81:1232-1239.
3. Tongchan P, Prutipanlai S2, Niyomwas S, Thongraung S. 2009. Effect of calcium compound obtained from fish byproduct on calcium metabolism in rats. J. Food Ag-Ind. 2005. 2(04),669-676.
4. Zheng, LY, Zhu JF. Antimicrobial activity of chitosan with different molecular

- weights. carbohydrate polimer. 2009 ; 527- 530.
5. Amin H. Kajian penggunaan khitosan sebagai antibakteri dalam pembuatan sabun transparan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2006.
 6. Makmur AA, Suryono. Efektivitas kitosan cangkang udang galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) terhadap Proliferasi Sel Fibroblast Gingiva (Uji In-Vitro) [skripsi}. Skripsi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 2011.
 7. Berger J, Reist M, Mayera JMO, Felth NA, Peppas R, Gurny. Structure and interaction in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharm And BioPharm* 2004;57: 19-34.
 1. 8. Clark J. Why does orange juice taste bad after you brush your teeth? Available from: <http://www.howstuffworks.com>. Diakses pada tanggal 11 Juni 2015.
 2. 9. Dwidjoseputro. Dasar-dasar mikrobiologi. Djambatan. Malang. 2005.
 3. 10. Sumiyatun. Studi Penambahan Sifat Antibakteri Kitosan dan Komposit Kitosan-Ag dalam Proses Daur. 2010;
 4. 11. Amry M F. Komposisi Systema Nano [Internet]. 2015 [cited 2016 Feb 12]. Available from: <http://www.komposisiproduk.com/pembersih/pasta-gigi/systema-nano/>
 5. 12. Pratama RN. Efek Antibakteri Pasta Gigi Yang Mengandung Baking Soda dan Pasta Gigi Yang Mengandung Fluor Terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak. 2014; Available from: http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/11859/SKRIPSI_RANDY.pdf?sequence=1