

## Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen terhadap *Enterococcus faecalis* secara *In Vitro*

### (*In Vitro* Antibacterial Activity of Vitamin C and Amoxicillin Combination as an Alternative of Intracanal Medicament Material against *Enterococcus faecalis*)

Julia Eka Putri Ayuningtyas, Pudji Astuti, Dwi Warna Aju Fatmawati  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121  
e-mail korespondensi: juliaeka247@gmail.com

#### **Abstract**

*Bacteria that are often found in cases of pulp necrosis and root canal treatment are Enterococcus faecalis. Elimination of microorganisms in the root canal can use intracanal medicament. The intracanal medicament can be used from antibiotics such as amoxicillin. The antibacterial power of amoxicillin can be increased by combination with vitamin C to prevent resistance. This research aimed to determine the zone of inhibition of vitamin C and amoxicillin against Enterococcus faecalis. The method used in this study is well diffusion method. Inhibition is shown through the clear zone around the wellbore at 24 hours, 48 hours, 72 hours after incubation. The number of research samples is 16 consisted of 4 groups consisting of amoxicillin, vitamin C, a combination of vitamin C and amoxicillin, and 3 MIX MP. The data were tested by non-parametric statistical analysis Kruskal Wallis and Mann Whitney. The result showed that vitamin C and amoxicillin's antibacterial activity as alternative material intracanal medicament is equivalent to antibacterial 3 MIX MP.*

**Keywords:** *Zone of inhibition, Medicament Intracanal, Amoxicillin, Vitamin C, Enterococcus faecalis*

#### **Abstrak**

Bakteri yang sering dijumpai pada kasus nekrosis pulpa dan kegagalan perawatan saluran akar adalah *Enterococcus faecalis*. Eliminasi mikroorganisme pada perawatan saluran akar dapat menggunakan intrakanal medikamen. Intrakanal medikamen dapat berasal dari bahan antibiotik seperti amoksisilin. Daya antibakteri amoksisilin dapat ditingkatkan dengan kombinasi bersama vitamin C untuk mencegah resistensi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin terhadap zona hambat *Enterococcus faecalis*. Metode yang digunakan penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Daya hambat ditunjukkan melalui zona bening disekitar lubang sumuran yang diamati pada waktu 24 jam, 48 jam, 72 jam setelah inkubasi. Jumlah sampel penelitian 24 terdiri dari 4 kelompok perlakuan yaitu amoksisilin, vitamin C, kombinasi amoksisilin dan vitamin C, serta 3 MIX MP. Data diuji menggunakan analisis *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen setara aktivitas antibakteri 3 MIX MP.

**Kata kunci:** *Zona hambat, Intrakanal Medikamen, Amoksisilin, Vitamin C, Enterococcus faecalis*

## Pendahuluan

Nekrosis pulpa merupakan keadaan pulpa tidak merespon terhadap tes sensibilitas. Kondisi tersebut disebabkan karena dua faktor yaitu non infeksi berupa trauma gigi dan infeksi berupa invasi bakteri melalui lesi karies. Invasi bakteri pada saluran akar melewati tubulus dentinalis atau akumulasi debris pada pulpa yang terpapar [1].

Bakteri yang sering dijumpai pada nekrosis pulpa salah satunya adalah *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). *E. faecalis* menunjukkan patogenitas pada kegagalan perawatan endodontik dengan prevalensi sebesar 24-70%. Menurut studi Gajan *et al* (2009) *E. faecalis* menempati urutan ke – 4 spesies bakteri terbanyak pada 150 kasus nekrosis pulpa dan kegagalan perawatan endodontik [2,3].

Eliminasi mikroorganisme pada saluran akar dapat dilakukan dengan perawatan endodontik atau yang dikenal perawatan saluran akar. Melalui perawatan saluran akar tahap eliminasi mikroorganisme dilakukan melalui preparasi kemo-mekanis, penggunaan bahan irigasi antibakteri dan intrakanal medikamen. Area yang sulit dijangkau oleh preparasi kemomekanis dapat dilakukan desinfeksi dengan mengaplikasikan bahan intrakanal medikamen. Efek yang dimiliki oleh intrakanal medikamen lebih panjang dibandingkan dengan bahan irigasi [4]. Medikamen ini diaplikasikan pada saat antar kunjungan perawatan endodontik sebelum dilakukan obturasi

Intrakanal medikamen memiliki berbagai jenis golongan bahan, diantaranya yaitu golongan antibiotik. Salah satu intrakanal medikamen golongan antibiotik yang nya masih digunakan untuk sterilisasi saluran akar saat ini adalah pasta triple antibiotik atau 3MIX MP. 3 MIX MP yang dikembangkan oleh Hoshino merupakan gabungan antibiotik siprofloksasin, metronidazole, dan minosiklin [5]. Akan tetapi bahan ini memiliki kelemahan menimbulkan diskolorasi gigi akibat adanya minosiklin dan juga multidrug resisten sehingga dibutuhkan alternatif antibiotik lain yang sama efektifnya.

Amoksisillin merupakan antibiotik spektrum luas. Amoksisilin merupakan antibiotik derivat dari penisillin. Antibiotik ini bekerja dengan melawan bakteri Gram negatif dan Gram positif [6]. Namun antibiotik ini juga memiliki peluang munculnya resistensi sehingga dibutuhkan bahan tambahan untuk meningkatkan aktivitas antibakteri amoksisilin.

Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai adjuvan amoksisilin adalah vitamin C. Vitamin C memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa mikroorganisme rongga mulut [7]. Sebuah studi *in vitro* menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dapat meningkatkan aktivitas antibakteri penisillin G [8]. Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk meneliti efek antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen.

## Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu the post test only control group design. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok yaitu 3MIX MP, amoksisilin, vitamin C, dan kombinasi vitamin C dengan amoksisilin.

Pembuatan kelompok perlakuan amoksisilin diawali dengan menimbang 100 mg bubuk amoksisilin trihidrat. Teteskan akuades steril sebanyak 0,03 ml atau per 0,01 ml sebanyak 3 kali menggunakan syringe 1 ml di samping bubuk amoksisilin. Saat mengambil akuades menggunakan syringe pastikan tidak ada hampa udara. Mencampur amoksisilin dengan akuades dengan cara diaduk di atas glass plate menggunakan spatula semen. Mencampur hingga konsistensi menjadi pasta yang dempul .

Pembuatan kelompok perlakuan vitamin C dilakukan dengan menimbang 100 mg bubuk vitamin C. Teteskan akuades steril 0,03 ml atau per 0,01 ml sebanyak 3 kali menggunakan syringe 1 ml di samping bubuk vitamin C. Mencampur vitamin C dengan akuades dengan cara diaduk di atas glass plate menggunakan spatula semen. Mencampur hingga konsistensi pasta yang creamy.

Pembuatan kelompok kombinasi vitamin C dengan amoksisilin dengan cara yang sama, diawali dengan pembuatan 100 mg pasta vitamin C terlebih dahulu dilanjutkan pembuatan 100 mg pasta amoksisilin. Kedua pasta yang sudah jadi di campur menjadi satu dengan cara diaduk sampai homogen sekitar 20 kali pengadukan.

Kelompok 3 MIX MP menggunakan produk 3 MIX MP (3MIX MP, Japan) dibuat dengan menimbang bubuk 3 MIX sebanyak 100 mg. Kemudian membagi rata 100 mg bubuk 3MIX menjadi tujuh bagian. Mengambil pasta MP setara dengan satu bagian bubuk 3MIX. Bubuk dan pasta dicampur menjadi satu secara sedikit demi sedikit sampai menjadi pasta.

Media MHA dibuat dengan cara mencampur 3,8 gram MHA dan 100 ml akuades didalam erlenmeyer. Diaduk dan dipanaskan pada kompor listrik sampai homogen. Kemudian tabung erlenmeyer ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam autoclave suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

Suspensi *E. faecalis* dengan standar larutan Mc Farland 0,5.dinokulasikan pada petridish steril sebanyak 1 ml. Media MHA dituang dalam petridish hingga ketebalan agar ±3 mm. Petridish ditutup dan diputar membentuk angka delapan untuk menghomogenkan campuran media dan suspensi. Setelah media memadat, lubang sumuran dibuat dengan steril cork borer dengan diameter 5 mm. Kelompok perlakuan masing-masing dimasukkan kedalam lubang sumuran sebanyak 100 mg. Petridish diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C.

Pengamatan aktivitas antibakteri melalui zona hambat dan dilakukan pada waktu 24 jam, 48 jam, 72 jam. Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong dengan rumus:

$$\frac{(Dv - Ds) + (Dh - Ds)}{2}$$

Keterangan :

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Ds = Diameter sumuran

Analisis data penelitian menggunakan uji levene dan shapiro wilk. Kemudian dilakukan uji lanjutan uji non parametrik Kruskal Wallis dan uji Mann Whitney (p<0,05).

### Hasil Penelitian

Hasil penelitian aktivitas antibakteri 3 MIX MP, amoksisilin, vitamin C dan kombinasi vitamin C dengan amoksisilin terhadap pertumbuhan *E.faecalis* yang ditunjukkan melalui rerata zona hambat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Zona Hambat 3MIX MP, Amoksisilin, Vitamin C, dan kombinasi vitamin C dengan amoksisilin

Kelompok	N	Hari ke-1		Hari ke-2		Hari ke-3	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
P1	4	27,44	0,35	26,21	0,23	24,80	1,03
P2	4	29,15	0,19	28,92	0,05	28,42	0,17
P3	4	22,92	0,25	22,34	0,63	19,95	0,23
P4	4	25,94	0,48	25,42	0,87	23,58	0,74

Keterangan:

N: jumlah pengulangan sampel

Mean : rerata zona hambat (mm)

SD : standar deviasi

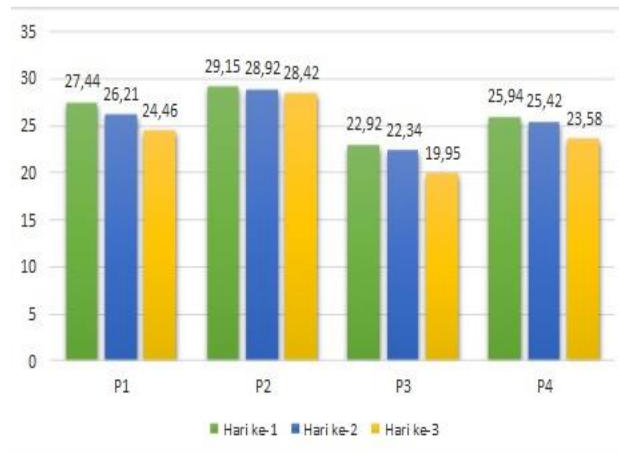
P1 : 3MIX MP

P2 : amoksisilin

P3 : vitamin C

P4 : kombinasi vitamin C dan amoksisilin

Data yang diperoleh secara deskriptif menunjukkan bahwa pada hari ke-1 zona hambat terbesar pada kelompok amoksisilin, hari ke-2 3MIX MP dan hari ke-3 3MIX MP. Rerata zona hambat setiap kelompok mengalami penurunan dari hari ke-1 sampai ke-3.



Gambar 1. Diagram rata-rata zona hambat hari ke-1, 2 dan 3

Tabel 2. Uji Kruskal Wallis

	Kruskal Wallis H	Df	Asymp. Sig
Antar Kelompok	39,727	3	,000

Nilai rata-rata zona hambat masing-masing kelompok dianalisis secara statistika. Uji Levene dan Shapiro Wilk menunjukkan data tidak homogen dan tidak berdistribusi normal. Dilanjutkan uji nonparametrik yaitu uji Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada seluruh kelompok penelitian.

Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Pada uji analisis data antar kelompok hari ke-1 pengamatan, menunjukkan seluruh kelompok memiliki perbedaan yang bermakna sedangkan analisis data antar kelompok hari ke-2 dan ke-3 pengamatan menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok 3MIX MP dengan kombinasi amoksisilin dan vitamin C.

## Pembahasan

Hasil analisis data uji *Kruskal Wallis* dan uji Mann Whitney pada waktu pengamatan hari pertama, menunjukkan seluruh kelompok memiliki perbedaan yang bermakna. Kelompok penelitian berasal dari zat antibakteri yang berbeda-beda. Perbedaan jenis antibiotik mempengaruhi efek pertumbuhan pada inokulum bakteri dan seleksi strain resisten yang sama [9].

Cara kerja amoksisilin sebagai antibiotik golongan penisillin melalui penghambatan tahap ketiga dan terakhir sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri diperlukan dalam proses pembelahan sel untuk reproduksi bakteri. Dinding sel bakteri tersusun atas peptidoglikan, polimer ikatan silang polisakarida dan polipeptida. Amoksisilin menghambat reaksi transpeptidase akhir yang diperlukan untuk menyelesaikan ikatan silang polisakarida [10].

3MIX MP merupakan pasta triple antibiotik yang terdiri dari antibiotik metronidazole, siprofloksasin dan minosiklin. Metronidazole terlibat dalam aktivitas reduktif protein transpor intraseluler untuk membentuk radikal bebas sitotoksik yang menyebabkan kerusakan DNA bakteri [11]. Cara kerja siprofloksasin dengan menghambat enzim topoisomerase II penghidrolisis adenosin trifostat esensial untuk mengganggu proses sintesis DNA bakteri [12]. Aktivitas antibakteri minosiklin didapatkan dari kemampuan minosiklin menghambat sintesis protein bakteri [13].

Daya antibakteri berbagai antibiotik terhadap *E. faecalis* dipengaruhi oleh tingkat supsepsibilitas. Menurut penelitian Patidar (2013) amoksisilin memiliki sensitivitas sebesar 100%, siprofloksasin resisten sebesar 57,6% (30 isolat) dan tetrasiklin resisten sebesar 65,3% (34 isolat) terhadap isolat *E. faecalis* [14]. Penelitian lain yang dilakukan oleh Rams (2013) menunjukan metronidazole resisten 100% terhadap isolat *E. faecalis* pasien periodontitis [15].

Selain memiliki sifat antioksidan, vitamin C pada kondisi in vitro diduga dapat berperan sebagai pro-oksidan. Sifat pro-oksidan vitamin C membentuk *reactive oxygen superoxide* melalui reaksi Harber-Weiss dan Fenton yang menimbulkan kerusakan DNA sel bakteri [16]. Mekanisme lain vitamin C dalam menghambat bakteri diduga melalui reduksi *extracellular polymeric substances* (EPS) yang menyebabkan

defek pembentukan biofilm bakteri sehingga bakteri rentan mengalami stress oksidatif [17].

Data zona hambat kombinasi vitamin C dan amoksisilin lebih kecil daripada amoksisilin. Hal yang sama juga terjadi pada studi yang dilakukan Biswas (2013) yang mengkombinasi vitamin C dengan azithromisin. Kombinasi vitamin C dengan azithromisin tidak menghasilkan zona hambat yang lebih besar daripada zona hambat azithromisin [18]. Menurut Bollenbach (2015), mekanisme yang mendasari interaksi obat sebagian besar masih belum diketahui. Beberapa interaksi obat memiliki interaksi yang kompleks ketika obat mengganggu fisiologi sel dan menyebabkan respons seluler yang kemudian mempengaruhi aktivitas obat lain [19].

Aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin tidak lebih besar dari amoksisilin diduga disebabkan oleh teknik pencampuran obat kurang homogen dan amoksisilin yang dimungkinkan terdegradasi lebih cepat pada saat kedua obat dicampur pada penelitian ini. Hal ini ditunjukkan melalui pengamatan warna zona hambat kombinasi kedua obat tersebut cenderung kekuningan dibandingkan zona hambat amoksisilin sendiri. Menurut penelitian Addotey (2015) degradasi amoksisilin-klavunalat dalam bentuk suspensi secara fisika dapat dilihat dari perubahan warna suspensi menjadi kuning. Degradasi pada obat menunjukkan ketidakstabilan obat [20]. Stabilitas obat diperlukan untuk mengurangi terjadinya penguraian zat yang terkandung dalam obat.

Analisis data pengamatan hari kedua dan ketiga menunjukkan antara kelompok kombinasi amoksisilin dan vitamin C dengan 3 MIX MP menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Hasil tersebut menunjukkan efektifitas kombinasi amoksisilin dan vitamin C dengan 3 MIX MP hampir sama meskipun 3 MIX MP terdiri dari tiga antibiotik. Aktivitas antibakteri salah satunya dipengaruhi oleh tingkat sensitivitas yang dimiliki antibiotik.

3 MIX MP mengandung siprofloksasin dan minosiklin (turunan tetrasiklin) yang memiliki tingkat sensitivitas antibiotik lebih rendah terhadap *E. faecalis* jika dibandingkan dengan amoksisilin berdasarkan studi Patidar (2013) yang menguji kepekaan siprofloksasin, amoksisilin dan tetrasiklin terhadap *E. faecalis* akan tetapi interaksi amoksisilin dengan vitamin C pada penelitian ini diduga menyebabkan amoksisilin lebih cepat terdegradasi sehingga mengurangi potensi antibakteri yang dimiliki amoksisilin.

Penurunan zona hambat semua kelompok pada penelitian ini diduga dipengaruhi oleh waktu pengamatan. Hambatan mikroorganisme dipengaruhi oleh faktor durasi pengaplikasian zat antimikroba pada mikroorganisme [21]. Semakin lama waktu pengamatan maka zat antibakteri yang berdifusi semakin berkurang sehingga aktivitas antibakteri berkurang.

### Simpulan dan Saran

Kesimpulan penelitian ini yaitu aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen setara dengan aktivitas antibakteri 3 MIX MP.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sinergisme aktivitas antibakteri kombinasi amoksisilin dan vitamin C menggunakan metode uji antibakteri lain dengan variasi perbandingan konsentrasi lainnya.

### Daftar Pustaka

[1] Yu CY, Paul A. 2016. Responses of The Pulp, Periradicular and Soft Tissues Following Trauma to The Permanent Teeth. *Australian Dent J.* 61(1):39-58

[2] Gajan EB, Mohammad A, Rahib A, Amin SM, Zohreh M. 2009. Microbial Flora of Root Canals of Pulpally-infected Teeth: Enterococcus faecalis a Prevalent Species. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 3(1): 24–27

[3] Nishio AW, Melling G, Cuveillier C. 2018. Enterococcus faecalis Demonstrates Pathogenicity through Increased Attachment in an Ex Vivo Polymicrobial Pulpal Infection. *Infect Immun.* 86(5):e00871-17

[4] Felippini ALC. 2019. Introductory Chapter: Some Important Aspects of Root Canal Treatment, IntechOpen. IntechOpen. (Diakses pada 17 April 2019) <https://www.intechopen.com/online-first/introductory-chapter-some-important-aspects-of-root-canal-treatment>

[5] Parhizkar A, Nojehdehian H, Asgary S. 2018. Triple Antibiotic Paste: Momentous Roles And Applications In Endodontics A Review. *Restor Dent Endod.* 43 (3): p1-p16

[6] Dalia K, Bodil L, Margareta H. 2016. Antibiotics in Implant Dentistry, Dental Implantology and Biomaterial. Mazen Ahmad Jawad Amin Almasri, IntechOpen. (Diakses pada 17 April 2019) <https://www.intechopen.com/books/dental->

implantology-andbiomaterial/antibiotics-in-implant-dentistry

[7] Isela SNR, Nakagoshi CS, Martínez SJJ, Hernandez DR, Cabral RC. 2013. Ascorbic Acid On Oral Microbial Growth and Biofilm Formation. *The Pharma Innovation – Journal.* 2(4): 103-109.

[8] Aburawi SM, Elahmer NM, Eltaif NF. 2013. Effect of Vitamin C on Penicillin G Efficacy to Inhibit Bacterial Populations. *Tripolitana Med J.* 2 (2): pp 44-49

[9] Liu J, Shuyu X, Guyue C. 2017. Antimicrobial Activity and Resistance : Influencing Factors. *Front Pharmacol.* 8:364

[10] Rao R, Simar PK, Sanju N. 2011. Amoxicillin: A Broad Spectrum Antibiotic. *Int J Pharm Pharm Sci.* 3 (Issue 3): 30-37

[11] Connor BW, Jacqueline KL. 2019. Metronidazole. StartPearls (diakses pada 10 maret 2020).

[12] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539728/>

[13] Sharma PC, Ankit J, Sandeep J, Rakesh P, and Mohammad SY. Ciprofloxacin: review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. 2010. *J of Enzyme Inhibition and Med Chem.* p1-p12

[14] Garrido-Mesa N, Zarzuelo A, Gálvez J. 2013. Minocycline: far beyond an antibiotic. *Br J Pharmacol.* 169(2): 337–352.

[15] Patidar RK, Gupta MK, Singh V. 2013. Phenotypic detection of virulence traits and antibiotic susceptibility of endodontic Enterococcus faecalis isolates. *American Journal of Microbiological Research.* 1(1):4-9

[16] Rams TE, Feik D, Mortensen JE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. 2013. Antibiotic Susceptibility of Periodontal Enterococcus faecalis. *J Periodontol.* 84(7):1026-33

[17] Vilcheze C, Travis H, Brian W, William RJ. 2013. Mycobacterium Tuberculosis is Extraordinarily Sensitive to Killing by a Vitamin C-Induced Fenton Reaction. *Nat Commun;* 4: 1881

[18] Pandit S, Ravikumar V, Abdel-Haleem AM, Derouiche A., Mokkapatil V.R.S.S. 2017. Low Concentrations of Vitamin C Reduce the Synthesis of Extracellular Polymers and Destabilize Bacterial Biofilms. *Front. Microbiol.* 8: p1-p11.

[19] Biswas S, Thomas N, Mandal A, Mullick A, Chandra D. 2013. In vitro Analysis of Antibacterial Activity of Vitamin c Alone and in Combination with Antibiotics on Gram Positive Rod Isolated from Soil of a Dumping

- Site of Kolkata. Int J Pharm Bio Sci. 33(3):101-110
- [20] Bollenbach T. 2015. Antimicrobial interactions: mechanisms and implications for drug discovery and resistance evolution. *Current Opinion in Microbiolog.* 27:1–9
- [21] Addotey JNA, Awudzi LY, Adosraku RK. 2014. Stability Studies on Reconstituted Amoxicillin-Clavulanic Acid Oral Powder by HPLC Method Development and Quantification. *International Journal of Pharmaceutical Science and Practice.* 3 (1):pp1-12.
- [22] Pringgines D, Ridlo A, Sembiring N. 2017. Antibacterial Activity For Multi Drug Resistance (MDR) Bacteriae Bysea Cucumber Stichopus vastus Extract From Karimun Island- Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis.* 9(2):695-707.