

Perbandingan Efektivitas Antimikroba Nanopartikel Seng Oksida terhadap *Candida albicans* dengan *Streptococcus mutans*: Telaah Sistematis

Arnold Ferdy Yanto¹, Mora Octavia², Evi Ulina Margaretha Situmorang³

¹Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

²Departemen Ilmu Penyakit Gigi dan Mulut, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

³Departemen Fisiologi-Fisika, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

Alamat Korespondensi: mora.octavia@atmajaya.ac.id

Abstrak

Nanopartikel seng oksida (Np-ZnO) merupakan bahan dalam semen gigi yang digunakan dalam menambal gigi berlubang akibat karies karena memiliki daya antibakteri yang sangat baik. Penyebab utama karies adalah *Streptococcus mutans*. Selain bakteri tersebut, *Candida albicans* juga diketahui memiliki peran dalam perkembangan *Streptococcus mutans* terhadap kejadian karies gigi, walaupun mekanismenya belum jelas diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas daya antimikroba Np-ZnO pada *Candida albicans* dengan *Streptococcus mutans*. Penelitian ini akan menggunakan metode telaah sistematis dengan mengumpulkan berbagai jurnal dari berbagai database seperti: *PubMed*, *Google Scholar*, dan *ProQuest* dengan berfokus pada konsentrasi hambat minimum (KHM) maupun konsentrasi bunuh minimum (KBM) Np-ZnO pada kedua mikroorganisme tersebut. Berdasarkan 5 dari 2.764 jurnal yang ditemukan oleh tiga investigator dengan menggunakan PRISMA, didapatkan hasil konsentrasi Np-ZnO yang dibutuhkan dalam menghambat maupun membunuh *Streptococcus mutans* lebih kecil jika dibandingkan dengan *Candida albicans*, sehingga dapat disimpulkan Np-ZnO memiliki daya antimikroba yang lebih baik pada *Streptococcus mutans*. Meskipun demikian, partikel tersebut diketahui memiliki daya toksisitas yang relatif rendah sehingga dibutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengeliminasi *Candida albicans*.

Kata Kunci: *Candida albicans*, konsentrasi bunuh minimum, konsentrasi hambat minimum, *Streptococcus mutans*

A Systematic review : Antimicrobial Effectiveness of Zinc Oxide Nanoparticles against Candida albicans with Streptococcus mutans

Abstract

Zinc oxide nanoparticles (Np-ZnO) are materials in dental cement used in filling cavities due to caries because it has excellent antibacterial power. The primary cause of caries is *Streptococcus mutans*. In addition to these bacteria, *Candida albicans* is also known to have a role in developing *Streptococcus mutans* against the incidence of dental caries. However, the mechanism has yet to be known. This study aimed to compare the effectiveness of Np-ZnO antimicrobial power in *Candida albicans* with *Streptococcus mutans*. This research used a systematic review method by collecting various journals from databases such as *PubMed*, *Google Scholar*, and *ProQuest*, focusing on the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of Np-ZnO in the two microorganisms. Based on 5 out of 2,764 journals found by three investigators using PRISMA, the results of the concentration of Np-ZnO needed in inhibiting or killing *Streptococcus mutans* were minor compared to *Candida albicans*, so it can be concluded that Np-ZnO has better antimicrobial power in *Streptococcus mutans*. However, these particles are known to have relatively low toxicity, so higher concentrations are needed to eliminate *Candida albicans*.

Keywords: *Candida albicans*, minimum bactericidal concentration, minimum inhibitory concentration, nanoparticle zinc oxide, *Streptococcus mutans*.

How to Cite :

Yanto, A. F., Octavia, M., Situmorang, E. U. M. Perbandingan Efektivitas Antimikroba Nanopartikel Seng Oksida terhadap *Candida albicans* dengan *Streptococcus mutans*: Telaah Sistematis. *J Kdoks Meditek*, 2023; 29(2), 203–209. Available from:

<http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Meditek/article/view/2575/version/2582> DOI: <https://doi.org/10.36452/jkdokmeditek.v29i2.2575>

Pendahuluan

Gigi merupakan organ aksesoris dalam mulut yang memiliki banyak manfaat.¹ Gigi dapat dikelompokkan menjadi tiga bagian utama yang terdiri atas mahkota gigi, yang merupakan bagian teratas dari gigi dan dibatasi oleh gusi, kemudian di bawah garis gusi terdapat leher dan akar gigi.² Email merupakan lapisan terluar dari gigi dan merupakan lapisan terkeras dari gigi yang berwarna putih.³ Email dibentuk oleh sel ameloblas dan merupakan lapisan yang paling tahan terhadap proses pembusukan, hal ini dikarenakan email terdiri dari kalsium fosfat yang dapat dihancurkan oleh bakteri dalam rongga mulut.³ Pada gigi susu biasanya lapisan email lebih tipis dibandingkan dengan gigi dewasa.³

Salah satu masalah gigi yang dapat menimbulkan kerusakan lapisan gigi adalah karies/gigi berlubang. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menyatakan masalah gigi tersering yang dialami masyarakat Indonesia adalah gigi berlubang atau karies sebesar 45,3 % dari total kasus masalah gigi.⁴ Terjadinya masalah pada kesehatan gigi dan mulut dapat memberikan dampak buruk dalam kehidupan sehari-hari seperti berkurangnya rasa percaya diri serta dapat menurunkan kualitas dalam kegiatan sehari-hari pada saat belajar maupun bekerja.⁵ Bakteri yang paling berperan dalam proses terjadinya karies gigi adalah *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus*.⁶ Selain bakteri, ditemukan juga jamur *Candida albicans* yang terlibat dalam proses karies.⁷ Pada sebuah penelitian yang melibatkan 20 sampel gigi karies anak di bawah 10 tahun, ditemukan 75% dari sampel tersebut memiliki *Candida albicans*.⁸ *Candida albicans* juga dapat berinteraksi dengan bakteri *Streptococcus mutans* dalam proses terbentuknya biofilm yang dapat menyebabkan karies pada gigi.⁹ Perlekatan jamur ini dengan bakteri yang ada di rongga mulut sangat penting untuk kolonisasi dan ketahanan jamur ini.¹⁰ Selain sebagai tempat adhesi pada *Candida*, *Streptococcus* juga dapat menyediakan laktat yang akan berperan sebagai sumber karbon dalam pertumbuhan ragi jamur tersebut.¹⁰ Dimana hal ini dapat mengurangi jumlah oksigen sehingga akan menguntungkan pertumbuhan dari bakteri *Streptococcus*, khususnya *S. mutans*. Selain itu juga jamur ini dapat memberikan faktor perangsang pertumbuhan pada bakteri.¹⁰ Hal ini menyebabkan adanya hubungan antara *S. mutans* dan *C. albicans* pada proses terjadinya karies.¹⁰

Pada saat terjadi kerusakan di struktur lapisan gigi terutama di dekat pulpa, dapat dilakukan penambalan sementara dengan menggunakan bahan tambal atau semen Seng Oksida Eugenol (ZOE).¹¹ Semen ini dapat mengurangi rasa nyeri dan memiliki daya antibakteri sehingga mencegah terjadinya peradangan pada gigi.¹¹ Penelitian sebelumnya mengenai perbandingan nanopartikel seng oksida (Np-ZnO) dengan nanopartikel silver, ditemukan efek antibakteri Np-ZnO lebih besar dibandingkan dengan nanopartikel silver dalam melawan bakteri *Streptococcus mutans*, tetapi kedua bahan tersebut memiliki daya antibakteri yang sama terhadap *Lactobacillus*.¹² Penelitian lainnya mengenai pengaruh penambahan nanopartikel seng oksida pada semen eugenol, didapati daya antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan partikel seng oksida. Hal ini ditandai dengan pengukuran diameter zona bening dimana diameter zona bening dari Np-ZnO adalah 16,275mm lebih besar dari partikel seng oksida berupa 14,255mm (Novitasari dkk, 2013).¹³ Emami-Karvani dan Chehrazi (2012) menemukan bahwa Nanopartikel seng oksida (Np-ZnO) juga memiliki efek antibakteri yang baik, terutama pada bakteri gram positif.¹⁴

Selain *Streptococcus mutans* maupun *Lactobacillus* yang menjadi agen utama dalam terjadinya karies, penelitian oleh Khusnul & Muta'aly SJ(2018) menemukan bahwa *Candida albicans* juga berperan dalam proses terjadinya karies.⁸ Nanopartikel ZnO diketahui memiliki efek antibakteri yang sangat baik dalam melawan bakteri *Streptococcus mutans*, tetapi efektivitas dari partikel tersebut dalam melawan jamur *Candida albicans* masih sedikit dibahas. Karena masih kurangnya penelitian mengenai topik tersebut, penelitian kali ini memiliki tujuan untuk mengetahui apakah Np-ZnO memiliki daya antimikroba yang sama terhadap *C. albicans*, dibandingkan dengan *S. mutans* dalam mencegah terjadinya karies, dengan melihat dari segi sitotoksitas dari logam tersebut sehingga pencegahan pembentukan karies dapat dilakukan dengan lebih menyeluruh.

Metodologi

Metode penelitian ini akan menggunakan telaah sistematis dengan menggunakan protokol yang terdapat pada guideline *Preferred Reporting for Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses-Protocols* (PRISMA-P) dari beberapa database yaitu : *PubMed*, *Google Scholar*, dan *ProQuest* dengan berfokus pada *minimum*

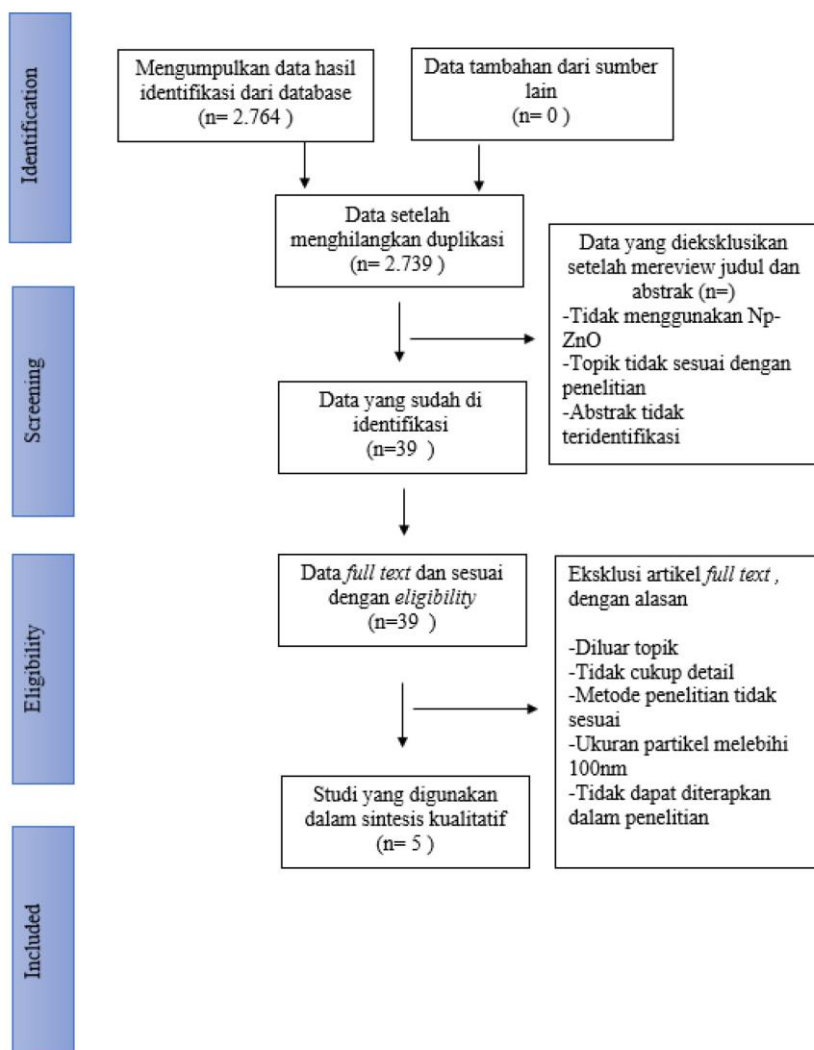
inhibitory concentration (MIC) dan *minimum bactericidal concentration* (MBC). Pencarian pada database akan dikumpulkan sesuai dengan kata kunci berupa “*Nanoparticles OR Nanoparticle OR Nanocrystalline OR Materials, Nanocrystalline AND Zinc Oxide OR Oxide, Zinc AND Microbial Sensitivity Tests OR Microbial Sensitivity Test OR Sensitivity Test, Microbial OR Fungal Drug Sensitivity Tests OR Minimum Inhibitory Concentration OR Concentration, Minimum Inhibitory OR Bacterial Sensitivity Test OR Sensitivity Test, Bacterial OR Minimum Inhibitory Concentrations AND Candida albicans OR Streptococcus mutans*” dengan rentang waktu dari tahun 2011-2021. Studi yang diambil menggunakan Bahasa Indonesia dan Inggris.

Hasil pencarian data pada database *PubMed*, *Google Scholar*, dan *ProQuest* dengan *keyword* dan dengan rentang waktu yang telah ditentukan sebelumnya adalah 2.764 jurnal. Kemudian data tersebut diseleksi untuk menghilangkan jurnal yang sama (duplikasi) pada masing-masing

database dan menghasilkan 2.739 jurnal. Setelah mengumpulkan jurnal dari database, data tersebut kemudian diseleksi dengan diagram PRISMA yang telah ditentukan sebelumnya dihasilkan 5 jurnal yang digunakan dalam studi inklusi pada penelitian telaah sistematis ini (Gambar 1). Lima jurnal yang ditentukan semuanya termasuk dalam studi *in vitro*. Pada 5 jurnal studi *in vitro* ini, 2 jurnal membahas secara langsung mengenai nilai *MIC* dan *MBC* pada mikroorganisme yang akan diteliti, sedangkan 3 jurnal yang lain membahas mengenai daya antimikroba pada salah satu mikroorganisme yang ingin diteliti. Kelima jurnal yang akan digunakan, kemudian dinilai kualitasnya dengan menggunakan metode *The Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Tools*.^{15,16}

Hasil

Sebanyak 5 jurnal yang memenuhi kriteria akan digunakan dalam penelitian ini, yang akan ditunjukkan dalam Tabel 1 di bawah.



Gambar 1. Diagram PRISMA¹⁶

Tabel 1. Konsentrasi MIC dan MBC Np-ZnO pada *S. mutans* dan *C. albicans*

Studi	Sampel		Konsentrasi MIC dan MBC/MFC Np-ZnO Terhadap <i>S. mutans</i> dan <i>C. albicans</i>								Kesimpulan
			Metode Pengujian	Media Kultur		Ukuran Np-ZNO	MIC (µg/ml)		MBC/MFC (µg/ml)		
				<i>S. Mutans</i>	<i>C. albicans</i>		<i>S. Mutans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. Mutans</i>	<i>C. albicans</i>	
Mirhossemi et al (2019) ¹⁷	Department of Microbiology at the School of Medicine of Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran	the Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran.	Microdilution method	Mueller Hinton Agar (MHA) dengan 5% darah domba	Sugar Dextrose Agar (SDA)	20 -nm, 40nm, dan 140nm	0.625, 1.04, dan 1.66	10, >10, dan >10	1.25, 2.08, dan 3.33	>10, >10, dan >10	Hasil MIC dan MIB pada <i>C. albicans</i> lebih besar dibandingkan <i>S. mutans</i> dalam berbagai ukuran Np-ZnO yang menandakan daya antimikroba pada <i>S. mutans</i> lebih baik.
Vijayakumar and Vaseeharan (2018) ¹⁸	the American type culture collection (ATCC)	Microbial type culture collection (MTCC) India	broth dilution method	Muller Hinton broth (MHB)	Muller Hinton broth (MHB)	20nm - 50nm	2.124 ± 0.44	2.274 ± 0.25	98.2 ± 0.94	99.7 ± 0.99	Nilai MIB dan MIC cl- Np ZnO pada <i>C. albicans</i> lebih tinggi dari <i>S. mutans</i> yang menandakan cl-Np ZnO pada <i>S. mutans</i> lebih baik (p<0.05).
Kermani et al (2020) ¹⁹		isolasi dari pasien candidiasis	broth microdilution method		Sabouraud dextrose agar (SDA)	10-30nm dengan rata-rata 20nm		128		256	Nanopartikel ZnO memiliki daya anti fungal terhadap <i>C. albicans</i> walaupun harus dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan amphotericin B.
Palanikumar et al (2012) ²⁰		the Department of Microbiology (Christian Medical College, Vellore, Tamil Nadu, India).	broth dilution method		SDA atau Potato dextrose agar (PDA)	15 ± 4 nm; 25 ± 4 nm; 38 ± 2 nm		200; 200; 200			Konsentrasi MIC pada <i>C. albicans</i> lebih besar dari bakteri gram positif dan negatif lainnya terutama jika dibandingkan dalam ukuran nanopartikel 15 ± 4 nm.
Ahrari et al (2015) ²¹	Bu Ali Research Institute, Mashhad, Iran		liquid microdilution method	Agar darah domba 5%		20nm	0.3906		3.125		Nilai MIC dan MBC Np ZnO terhadap <i>S. mutans</i> menunjukkan hasil yang lebih baik daripada partikel logam lainnya seperti nano CuO, nano Ag , dan zat lain seperti chlorrhidine yang sering dijumpai dalam obat kumur (p<0,001)

Pembahasan

S. mutans merupakan salah satu mikroorganisme penyebab karies gigi yang utama. Tetapi terdapat mikroorganisme lainnya yang dapat membantu *S. mutans* dalam terjadinya karies seperti *C. albicans*. Walaupun mekanismenya masih belum banyak diketahui, *C. albicans* diduga memiliki peran dalam mekanisme perlengketan bakteri *S. mutans* pada gigi yang mempermudah terjadinya karies. Np-ZnO merupakan partikel yang sering digunakan dalam bidang kedokteran gigi, dimana partikel ini diketahui memiliki daya antibakteri yang cukup baik dalam mencegah pertumbuhan bakteri *S. mutans* dibandingkan dengan *C. albicans*. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Ahrari *et al.* (2015) dimana ditemukan nilai MIC dan MBC yang lebih rendah (0,3906 µg/ml dan 3,125 µg/ml) dibandingkan dengan bahan logam lainnya seperti nanoCuO (MIC : 12,5 µg/ml; MBC : 25 µg/ml) dan nanoAg (MIC & MBC : 25 µg/ml) serta zat lain yang sering terdapat pada obat kumur dan bersifat antiseptik yakni chlorhexidine.²¹ Oleh karena itu, pada artikel ini penulis akan menelaah mengenai perbandingan nilai MIC dan MBC Np-ZNO pada *S. mutans* dengan *C. albicans* serta meninjau sitotoksitas partikel tersebut.

Dari 5 jurnal yang digunakan dalam telaah ini, terdapat 2 jurnal yang membahas kadar MIC dan MBC pada kedua mikroorganisme tersebut.^{17,18} Ketiga jurnal lainnya membahas nilai MIC ataupun MBC dari salah satu mikroorganisme tersebut terdapat 2 jurnal mengenai *C. albicans* dan 1 jurnal mengenai *S. mutans*.^{19,20,21} Kelima jurnal tersebut menilai konsentrasi MIC dan MBC menggunakan satuan µg/ml. Kedua jurnal yang membandingkan daya antimikroba kedua mikroba tersebut mendapatkan hasil daya antimikroba Np-ZnO lebih baik pada *S. mutans* dibandingkan dengan *C. albicans* secara signifikan ($p < 0.05$).^{17,18} Sedangkan pada ketiga jurnal lainnya yang membahas salah satu dari mikroba tersebut yakni *C. albicans* maupun *S. mutans* dikarenakan metode yang digunakan cukup bervariasi antar jurnal seperti variasi dari metode dilusi, nilai serial dilusi, lama inkubasi, jenis agar, variasi ukuran dari Np-ZnO sehingga ketiga jurnal tersebut akan ditelaah secara individual oleh penulis untuk mendapatkan informasi yang bermanfaat dalam penelitian ini.

Partikel nano yang dimodifikasi dengan biomolekul memiliki rasio luas permukaan terhadap volume yang tinggi.¹⁷ Np-ZnO memiliki sifat antibakteri dan antifungal dengan memproduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS)

seperti H₂O₂ dan ion-ion superoksida (-O₂), dimana memiliki aplikasi biologis yang penting.²² Ukuran dan konsentrasi Np-ZnO berperan penting dalam aktivitas antibakteri.¹⁷ Produksi H₂O₂ terutama dipengaruhi oleh luas permukaan Np-ZnO, dimana luas permukaan yang lebih besar dan konsentrasi yang lebih tinggi pada partikel yang berukuran lebih kecil dapat meningkatkan aktivitas antibakteri.²³ Kemungkinan *Streptococcus mutans* lebih sensitif terhadap perubahan ukuran partikel Np-ZnO karena kemampuan mikroorganisme tersebut untuk menghasilkan spesies aktif seperti H₂O₂ dan perbedaan dalam ketahanan intrinsik dan infektivitas antar mikroorganisme.²⁴ Efek antibakteri yang tinggi dari Np-ZnO pada *S. mutans* dapat dikaitkan dengan produksi spesies oksigen aktif (AOS) yang menempel pada permukaan sel atau menumpuk di sitoplasma sel.¹⁷ Np-ZnO dapat mengganggu membran *two-layered* lipid pada organisme jamur dengan cara mengganggu fungsi seluler dan menghancurkan hifa jamur untuk mencegah pertumbuhan jamur.²⁵ Namun ion logam Zn juga dapat digunakan sebagai koenzim dalam regulasi dari fungsi metabolisme dan stabilitas struktur enzim jamur sehingga *C. albicans* menjadi kurang sensitif terhadap Np-ZnO.²³ Hal ini dapat menjelaskan mengapa semen Np-ZnO memiliki daya antibakteri yang lebih baik terhadap *S. mutans* daripada *C. albicans*.²³

Penelitian oleh Mirhosseni *et al.* (2019) dan Vijayakumar and Vaseeharan (2018) menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi MIC maupun MBC yang dibutuhkan oleh Np-ZnO dalam menghambat dan mengeliminasi kedua mikroorganisme tersebut secara signifikan, dimana didapatkan konsentrasi yang lebih rendah pada *S. mutans* dibandingkan *C. albicans* yang menandakan Np-ZnO memiliki daya antimikroba yang jauh lebih baik pada *S. mutans* dibandingkan jamur *C. albicans*.^{17,18} Hal ini dapat terlihat dalam hasil penelitian yang menggunakan ukuran Np-ZnO 20nm, 40nm, dan 140nm. Dimana nilai MIC pada *S. mutans* berturut-turut adalah 0,625 µg/ml; 1,04 µg/ml; dan 1,06 µg/ml sedangkan pada *C. albicans* adalah 10 µg/ml, >10 µg/ml, dan >10 µg/ml. Selain nilai MIC, nilai MFC Np-ZnO pada *C. albicans* juga diketahui masih lebih tinggi dibandingkan dengan *S. mutans* (MBC *S. mutans* : 0,625 µg/ml pada ukuran 20nm dan 2,5 µg/ml pada ukuran 140nm) yakni >10 µg/ml pada semua ukuran Np-ZnO.¹⁷ Konsentrasi MIC Np-ZnO pada penelitian Palanikumar *et al.* (2012) terhadap *C. albicans* juga menunjukkan hasil dimana dibutuhkan konsentrasi sebesar 200 µg/ml pada berbagai ukuran Np-ZnO yang diuji coba (15 ± 4 nm; 25 ± 4 nm; 38 ± 2 nm). Selain itu, terdapat

juga kelompok kontrol positif yakni ketoconazole dengan nilai MIC 25 µg/ml.²⁰

Penelitian oleh Vijayakumar and Vaseeharan (2018) membahas mengenai nilai MIC dan MBC kedua mikroorganisme tersebut dengan menggunakan Np-ZnO berukuran partikel 20-50nm yang disintesis dari kolagen. Ditemukan perbedaan nilai konsentrasi MIC dan MBC pada kedua mikroorganisme tersebut yakni MIC Cl-NpZnO pada *S. mutans* dan *C. albicans* adalah 2.124 ± 0.44 µg/ml dan 2.274 ± 0.25 µg/ml. Selain itu, nilai MBC pada *S. mutans* (98.2 ± 0.94 µg/ml) lebih rendah dibandingkan dengan nilai MFC *C. albicans* (99.7 ± 0.99 µg/ml). Pada penelitian tersebut juga dilakukan uji sitotoksitas dengan menggunakan *murine macrophages cell* tikus dengan konsentrasi 25,50, dan 75 µg/ml dan didapatkan hasil bahwa Cl-NpZnO bersifat *non-toxic* dikarenakan tidak terlihat adanya perubahan pada morfologi dan stabilitas dari membran sel tersebut.¹⁸

Hasil sitotoksitas yang diperoleh dari penelitian sebelumnya juga cukup konsisten dengan hasil penelitian dari Kermani *et al.* (2020) dimana didapatkan nilai MIC dan MFC pada Np-ZnO yakni 128 µg/ml dan 256 µg/ml, dimana nilai tersebut jauh dibawah dari nilai CC50% Np-ZnO pada *mouse macrophages J/774* yang cukup tinggi yakni 706,2 µg/ml.¹⁹ Kadar sitotoksitas Np-ZnO yang ditemukan tergolong aman bagi jaringan, dimana angka tersebut masih terbilang cukup jauh dibandingkan konsentrasi yang dibutuhkan Np-ZnO dalam menghambat dan mengeliminasi *C. albicans*. Dengan demikian, walaupun dibutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat dan mengeliminasi *C. albicans* dibandingkan dengan *S. mutans*, tidak menutup kemungkinan bahwa Np-ZnO juga dapat diaplikasikan untuk mencegah dan mengobati infeksi jamur yang juga berperan dalam meningkatkan resiko karies gigi tetapi dengan memodifikasi konsentrasi dan ukuran Np-ZnO.

Simpulan

Daya antimikroba Np-ZnO pada *S. mutans* menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan *C. albicans* dimana nilai MIC dan MBC pada *S. mutans* lebih kecil dibandingkan dengan *C. albicans*.

Daftar Pustaka

1. Putri Mandasari NLM. Gambaran karies gigi molar pertama permanen pada siswa kelas V di sekolah dasar negeri 10 Kesiman tahun 2018. 2018;53(9):287. Available from: <http://repository.poltekkes-denpasar.ac.id/id/eprint/648>
2. Solikin, Muhlisin Abi, Kartinah. Hubungan tingkat pengetahuan orang tua tentang kesehatan gigi dan mulut dengan kejadian karies gigi pada anak prasekolah di TK 01 Pertiwi Karangbangun Karanganyar. Naskah Publ. 2013;1–17.
3. Sadewi BP. Pengaruh penambahan aditif polistiren pada karakteristik semen gigi zinc oxide eugenol secara in vivo tahun 2012 [skripsi]. Universitas Airlangga. 2012;1-54.
4. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan nasional riset kesehatan dasar. Kementerian Kesehat RI [Internet]. 2018;1–582. Available from: <https://dinkes.kalbarprov.go.id/wp-content/uploads/2019/03/Laporan-Riskesdas-2018-Nasional.pdf>
5. Kemenkes RI. Hasil riset kesehatan dasar tahun 2018. Kementerian Kesehat RI. 2018;53(9):1689–99.
6. Ramayanti S, Purnakarya I. Peran makanan terhadap kejadian karies gigi. J Kesehat Masy. 2013;7(2):89–93.
7. Adhi WK, Praptiwi H, Ratna S. Perbedaan daya antibakteri pasta gigi herbal dan non herbal terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*. J Chem Inf Model. 2019;53(9):1689–99.
8. Muta'aly SJ, Khusnul. Identifikasi jamur *Candida albicans* pada karies gigi anak di bawah umur 10 tahun siawa SDN Sariwangi Kabupaten Tasikmalaya. Pros Semin Nas dan Disem Penelit Kesehat STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya. 2018;(April):978–602.
9. Zikri N. Pengaruh interaksi *Candida albicans* dan *Streptococcus mutans* terhadap perubahan pH saliva. ETD Unsyiah [Internet]. 2016 [cited 2021 May 8];1(1). Available from: https://etd.unsyiah.ac.id/index.php?p=show_detail&id=19782
10. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: A sticky situation. PLoS Pathog. 2013;9(10).
11. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia [Internet]. Kemkes.go.id. 2021 [cited 28 April 2021]. Available from:

- <https://www.kemkes.go.id/article/view/20030900005/situasi-kesehatan-gigi-dan-mulut-2019.html>
12. Kasraei S, Sami L, Hendi S, Alikhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod*. 2014 May;39(2):109-14. doi: 10.5395/rde.2014.39.2.109.
 13. Novitasari R, Siswanto, Astuti SD. Uji antibakteri nano semen gigi zinc oxide eugenol. *Airlangga Med J*. 2013;1:41–57.
 14. Emami-Karvani, Zarrindokht & Chehrazi, Pegah. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. *African J Microbiol Res*. 2012;5(18).
 15. Briggs J. Checklist for systematic reviews and research syntheses. Joanna Briggs Inst [Internet]. 2017; Available from: <http://joannabriggs.org/research/critical-appraisal-tools.html> www.joannabriggs.org
 16. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372.
 17. Mirhosseini F, Amiri M, Daneshkazemi A, Zandi H, Javadi ZS. Antimicrobial effect of different sizes of nano zinc oxide on oral microorganisms. *Front Dent*. 2019;16(2):105–12.
 18. Vijayakumar S, Vaseeharan B. Antibiofilm, anti cancer and ecotoxicity properties of collagen based ZnO nanoparticles. *Adv Powder Technol*. 2018;29(10):2331–45. doi: [10.1016/j.apt.2018.06.013](https://doi.org/10.1016/j.apt.2018.06.013)
 19. Ahmadpour Kermani S, Salari S, Ghasemi Nejad Almani P. Comparison of antifungal and cytotoxicity activities of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles with amphotericin B against different *Candida* species: In vitro evaluation. *J Clin Lab Anal*. 2021;35(1):1–8.
 20. Palanikumar L, Ramasamy SN, Balachandran C. Size-dependent antimicrobial response of zinc oxide nanoparticles. *IET Nanobiotechnology*. 2014;8(2):111–7.
 21. Ahrari F, Eslami N, Rajabi O, Ghazvini K, Barati S. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* to colloidal solutions of different nanoparticles applied as mouthwashes. *Dent Res J (Isfahan)*. 2015;12(1):44–9.
 22. Zhang H, Chen B, Jiang H, Wang C, Wang H, Wang X. A strategy for ZnO nanorod mediated multi-mode cancer treatment. *Biomaterials*. 2011 Mar;32(7):1906-14.
 23. Padmavathy N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study. *Sci Technol Adv Mater*. 2008 Sep 1;9(3):035004
 24. Raghupathi KR, Koodali RT, Manna AC. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*. 2011 Mar;27(7):4020-8.
 25. He L, Liu Y, Mustapha A, Lin M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiol Res*. 2011 Mar 20;166(3):207-15