

**PENGARUH BERBAGAI MINUMAN PROBIOTIK TERHADAP
HAMBATAN PERTUMBUHAN *Streptococcus mutan* In Vitro**

NASKAH PUBLIKASI

Disusun untuk dipublikasikan pada jurnal ilmiah

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Muhammadiyah Surakarta



Diajukan oleh :

Pamungkas Handy Mulyawan

J 52010 0013

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

2014

NASKAH PUBLIKASI
PENGARUH BERBAGAI MINUMAN PROBIOTIK TERHADAP
HAMBATAN PERTUMBUHAN *Streptococcus mutan In Vitro*

Yang diajukan oleh :
Pamungkas Handy Mulyawan
J 52010 0013

Telah disetujui dan dipertahankan dihadapan dewan penguji skripsi Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta, pada hari
Rabu, 05 Maret 2014

Penguji

Nama : drg. Mahmud Kholifa, MDSc

NIP/NIK : 996

Pembimbing Utama

Nama : drg. Dwi Kurniawati, MPH

NIP/NIK : 1000 1547

Pembimbing Pendamping

Nama : drg. Rahardian Alif

NIP/NIK :

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Muhammadiyah Surakarta


drg. Soetomo Nawawi, DPH, Dent, Sp. Perio(K)

NIK : 300.1295

**PENGARUH BERBAGAI MINUMAN PROBIOTIK TERHADAP
HAMBATAN PERTUMBUHAN *Streptococcus mutan* In Vitro**
Pamungkas Handy Mulyawan¹, Dwi kurniawati², Rahardian Alif²

ABSTRAK

Karies gigi merupakan penyakit jaringan keras gigi yang diakibatkan oleh bakteri *Streptococcus mutan* dan merupakan salah satu masalah kesehatan rongga mulut yang banyak dijumpai di Negara berkembang. Probiotik merupakan sediaan sel mikroba hidup yang memiliki efek menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inangnya. Bakteri probiotik yang paling sering digunakan adalah asam laktat yang memproduksi bakteri *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Streptococcus*. Probiotik dalam rongga mulut memberikan manfaat berupa mencegah pertumbuhan bakteri berbahaya. Mekanisme antibakteri probiotik dalam rongga mulut berupa interaksi langsung dengan bakteri patogen, mencegah terjadinya adhesi bakteri patogen pada permukaan gigi, memodulasi lingkungan rongga mulut berupa penurunan pH saliva sehingga dapat mencegah pembentukan plak pada permukaan gigi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan perbedaan pengaruh berbagai minuman probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan*.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni laboratoris dengan metode *post-test control group design*. Sampel penelitian adalah *Streptococcus mutan*. Uji antibakteri probiotik dengan metode difusi sumuran. Daya antibakteri probiotik dilihat dari zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran dan diukur dengan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm.

Hasil penelitian berbagai minuman probiotik berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri (*Streptococcus mutan*) dan terdapat perbedaan daya antibakteri antar kelompok perlakuan (Probiotik I, Probiotik II dan Probiotik III) dengan rerata diameter zona hambat pada masing-masing sumuran sebesar 6,66 mm, 4,82 mm dan 3,23 mm. Hasil uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai sig 0,000 (sig < 0,05) yang membuktikan bahwa minuman probiotik berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan*.

Kesimpulan Berbagai minuman probiotik berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan* dan terdapat perbedaan daya antibakteri antara minuman probiotik I, II dan III dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutan*.

Kata Kunci : Probiotik, *Streptococcus mutan*, antibakteri

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

² Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

ANTIBACTERIAL EFFECTIVITY OF VARIOUS PROBIOTICS *Streptococcus mutan* GROWTH in vitro

Pamungkas Handy Mulyawan¹, Dwi kurniawati², Rahardian Alif²

ABSTRACT

Dental caries is a disease of the hard tissues of the teeth caused by the bacterium Streptococcus mutan and this one of the oral health problems that are often found in developing countries. Probiotics are living microbial cells that have a beneficial effect on the health and life of its host. Probiotic bacteria are most commonly used are lactic acid caused producing bacteria Lactobacillus, Bifidobacterium and Streptococcus. Probiotics in the oral cavity provides the benefits of preventing the growth of harmful bacteria. Antibacterial mechanism of probiotics in the oral cavity in the form of direct interaction with pathogenic bacteria, prevent the adhesion of pathogenic bacteria to the tooth surface, modulates the oral environment such as a decrease in salivary pH so as to prevent the formation of plaque on the tooth surface. This studied to determine the effectiveness and differences in effectiveness of probiotics in inhibiting Streptococcus mutan growth.

The Methods of this study was purely experimental laboratories with post-test only control group design methode. The samples were Streptococcus mutan. Antibacterial test of probiotics with diffusion method. Antibacterial power of probiotics seen from the inhibition zone formed around the wells and measured with calipers to the nearest 0.01 mm.

The results from a various of probiotic drink has antibacterial activity against Streptococcus mutan with a mean diameter of inhibition zone 6,66 mm, 4,82 mm dan 3,23 mm. Results of One-way ANOVA test obtained sig 0.000 (sig < 0.05), which proves that probiotic has effectiveness against streptococcus mutan growth.

From this studied shown that a variety of probiotic drinks has an antibacterial activity of Streptococcus mutan growth and there were antibacterial power differences between probiotic drinks I, II and III in inhibiting of Streptococcus mutan growth.

Keywords : Probiotics , *Streptococcus mutan*, antibacterial

¹ *Sudent of Dentistry Faculty, Muhammadiyah University, Surakarta*

² *Lecture of Dentistry Faculty, Muhammadiyah University, Surakarta*

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan salah satu masalah kesehatan rongga mulut yang banyak dijumpai baik di Negara maju maupun negara-negara berkembang. Di Indonesia penyakit karies gigi serta penyakit jaringan gusi masih tinggi, kurang lebih mencapai 80% dari jumlah penduduk.

Proses terjadinya karies diawali oleh lapisan tipis *biofilm* yang terdiri dari sel-sel bakteri, saliva, dan debris makanan, yang melekat pada permukaan gigi. *Biofilm* yang tidak terkontrol dapat dengan mudah mencapai ketebalan hingga ratusan sel melekat pada permukaan gigi. *Biofilm* yang terbentuk, disebut juga plak, menyediakan daerah perlekatan yang baik untuk kolonisasi dan pertumbuhan berbagai macam bakteri, khususnya *Streptococcus mutan*.⁶ *Streptococcus mutan* dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi asam sehingga terjadi penurunan pH rongga mulut. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya demineralisasi permukaan gigi yang merupakan proses awal terjadinya karies. Pencegahan karies dilakukan dengan cara mengurangi konsumsi karbohidrat atau mengganti dengan pemanis yang *non kariogenik*.⁷

Berbagai macam penelitian telah dilakukan untuk mengendalikan jumlah bakteri *Streptococcus mutan* dalam plak, dan salah satunya dengan menggunakan probiotik. Pengertian probiotik secara luas merupakan bakteri hidup atau bakteri campuran yang memiliki efek menguntungkan pada saluran cerna dan saluran nafas manusia melalui kemampuannya memperbaiki keseimbangan mikro flora usus. Terdapat lebih dari 100 spesies dan lebih dari 10 milyar bakteri dalam usus manusia. Bakteri pada saluran pencernaan manusia dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri yang berguna (*useful*) dan yang berbahaya (*harmful*). Probiotik merupakan bakteri yang berguna (*useful*) dari golongan bakteri asam laktat.⁸

Mekanisme probiotik dalam rongga mulut cenderung membuat *biofilm* yang bertindak sebagai lapisan yang menghambat terbentuknya plak dengan cara menurunkan pH saliva sehingga mampu melindungi jaringan mukosa mulut terhadap penyakit rongga mulut. Probiotik mampu menghasilkan antioksidan

yang dapat mencegah terbentuknya plak dengan cara menetralisasi elektron bebas yang dibutuhkan pada saat proses pembentukan plak.³

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratoris dengan rancangan penelitian *post test control group design*. Sampel pada penelitian ini adalah *Streptococcus mutan* yang diperoleh secara isolatif dari biakan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Bahan yang diuji dalam penelitian ini adalah berbagai minuman probiotik yang tersedia di pasaran, media *Brain Heart Infusion* dan *Mueller Hinton Agar*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat untuk uji aktivitas antibakteri (Cawan petri, inkubator, jangka sorong, mikropipet, perforator besi, kapas lidi steril, lampu spirtus).

Penelitian ini diawali dengan peremajaan bakteri *Streptococcus mutan* dan dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri berbagai minuman probiotik terhadap *Streptococcus mutan* dengan metode difusi sumuran, yaitu pada masing-masing media *Mueller Hinton Agar* diusapkan *Streptococcus mutan* secara merata dengan kapas lidi steril dan dibuat sumuran dengan perforator besi yang berdiameter 6 mm kemudian di isi dengan berbagai minuman probiotik (Probiotik I, Probiotik II dan probiotik III) sebanyak 50 µl dan menggunakan aquadest steril sebagai kontrol negatif dengan menggunakan mikropipet.

Media *Mueller Hinton Agar* yang telah ditetesi dengan berbagai minuman probiotik diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diameter zona radikal atau zona bening yang terbentuk di ukur dengan jangka sorong. Pengukuran zona radikal hasil penelitian dibaca setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan mengukur zona radikal yaitu daerah bening di sekeliling sumuran yang ditandai dengan tidak terdapat koloni bakteri.

Data hasil penelitian yang diperoleh merupakan data kuantitatif dengan skala rasio. Analisis data penelitian ini menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan dilanjutkan dengan homogenitas *levene-test*. Data berdistribusi normal dan homogen dilakukan analisis data dengan uji parametrik *One-Way Anova* dengan

tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan *Post-Hoc Tukey's Test*. Data diolah menggunakan *SPSS.21.0 for Windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian mengenai pengaruh berbagai minuman probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan*, menunjukkan hasil terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran yang telah diberi perlakuan berbagai minuman probiotik (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambatan Pertumbuhan *Streptococcus mutan*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm) *			
	Kontrol (-)	Probiotik		
		I	II	III
I	0	6,2	5	3,2
II	0	6	4,2	3
III	0	6	4	2,6
IV	06	7,2	5,2	4
V	0	8	6	3,6
VI	0	6,6	4,6	3
Rata-Rata	0	6,6	4,8	3,2

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data kuantitatif dengan skala rasio, kemudian dilakukan uji normalitas untuk mengetahui sampel yang diambil berasal dari populasi yang terdistribusi normal dan uji homogenitas untuk mengetahui sampel yang diambil homogen. Hasil uji normalitas *Saphiro-wilk* ($\text{sig} > 0,05$) menunjukkan bahwa keempat kelompok data terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas *Levene-test* adalah ($\text{sig} > 0.05$) menunjukkan bahwa keempat kelompok data homogen.

Data yang terdistribusi normal dan homogen merupakan syarat untuk dilakukannya uji *One-Way Anova*. Uji *One-Way Anova* dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh berbagai minuman probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan*. Hasil uji *One-Way Anova* menunjukkan nilai F hitung = 135,549 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($\text{sig} < 0.05$) dan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh berbagai minuman probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan* (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji *One Way Anova* pengaruh berbagai minuman probiotik I, II, III dan aquadest terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan*

	JK	db	RK	F	Sig.
Between Groups	149,953	3	47,984	135,549	,000
Within Groups	7,080	20	0,354		
Total	151,033	23			

Keterangan :

JK : jumlah kuadrat

Db : derajat bebas

F : nilai F hitung

Sig : nilai signifikansi

Selanjutnya dilakukan analisis data *Post-Hoc* yang pada penelitian ini dilakukan uji LSD (*Least Significance Different*) dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui kemaknaan pada setiap kelompok perlakuan. Signifikansi perbedaan hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan* yang ditunjukkan pada masing-masing zona hambat antara Probiotik I, Probiotik II dan Probiotik III (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc* data diameter zona hambat pertumbuhan *Streptococcus mutan* pada kelompok perlakuan dan kelompok Kontrol

(I) PROBIOTIK	(J) PROBIOTIK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	KESIMPULAN
Kontrol (-)	Probiotik I	-6,66667*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik II	-4,83333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik III	-3,23333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
Probiotik I	Kontrol (-)	6,66667*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik II	1,83333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik III	3,43333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
Probiotik II	Kontrol (-)	4,83333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik I	-1,83333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik III	1,60000*	,34351	,000	Sangat Bermakna
Probiotik III	Kontrol (-)	3,23333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik I	-3,43333*	,34351	,000	Sangat Bermakna
	Probiotik II	-1,60000*	,34351	,000	Sangat Bermakna

Keterangan :

Kontrol (-)

: Aquadest

*

: Bermakna (0,02 – 0,049)

**

: Sangat Bermakna (0,00 – 0,01)

Hasil uji LSD dengan nilai sig 0,000 (sig < 0,05) pada Tabel 3 menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan maupun antar kelompok perlakuan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh daya antibakteri berbagai minuman probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan*. Metode yang digunakan untuk mengetahui daya antibakteri berbagai minuman probiotik terhadap bakteri *Streptococcus mutan* dalam penelitian ini adalah metode sumuran. Metode sumuran merupakan metode yang digunakan untuk menentukan kepekaan bahan antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran. Dengan metode sumuran dapat ditetapkan suatu diameter zona bening yang menunjukkan kepekaan dari suatu zat antibakteri. Berbagai jenis minuman probiotik berkorelasi dengan diameter zona hambat sehingga bisa dijadikan untuk menentukan tingkat kepekaan.¹²

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terbentuk zona hambatan pada setiap perlakuan kecuali kelompok kontrol. Zona hambatan terbesar terdapat pada probiotik I yaitu sebesar 6,6 mm. Zona hambatan tersedang terdapat pada probiotik II yaitu sebesar 4,8 mm dan zona hambat terkecil terdapat pada probiotik III yaitu sebesar 3,2 mm dan tidak terbentuk zona hambat pada kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol tidak terbentuk zona hambat karena Aquadest merupakan pelarut universal dan tidak merubah pH larutan dan memiliki sifat netral oleh karena itu aquadest tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan*.¹¹ Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing probiotik menunjukkan aktivasi dan resistensi probiotik terhadap senyawa antibakteri.

Pada penelitian ini menunjukkan perbedaan berbagai minuman probiotik terhadap hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutan*, hal ini sesuai dengan penelitian Lorian (2005) yang melaporkan bahwa besar kecilnya daya hambat pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa antibakteri, jumlah bakteri, suhu, waktu, dan jenis bakteri. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Caglar dkk (2006) dengan melaporkan bahwa bakteri *Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus achidopilus* dalam waktu dua hari mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutan*, Parra dan Martinez melaporkan bahwa *Lactobacillus bulgarius* dan *Streptococcus thermopilus* mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutan* dalam waktu sepuluh hari,

sedangkan *Lactobacillus casei strain Shirota* mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutan* dalam waktu 14 hari.¹¹ Pada penelitian ini dilakukan pengujian pada 3 kelompok probiotik dengan kandungan bakteri yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri minuman probiotik yang paling berpengaruh dan perbedaan mekanisme antibakteri pada setiap minuman probiotik dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutan*.

Probiotik I merupakan minuman probiotik yang paling berpengaruh sebagai antibakteri karena mengandung bakteri *Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus achidophilus*. *Bifidobacterium Bifidum* memiliki mekanisme antibakteri dengan cara memproduksi substansi antibakteri seperti asam organik berupa hydrogen peroksida dan memiliki kemampuan untuk berkompetisi dengan bakteri patogen pada saat perlekatannya pada permukaan gigi serta memodulasi lingkungan rongga mulut dengan cara memodulasi pH rongga mulut,¹ sedangkan pada probiotik II mengandung bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgarius* memiliki senyawa antibakteri berupa asam laktat dan asam laktat hanya mampu melemahkan permeabilitas bakteri *Streptococcus mutan* dengan merusak membran terluar bakteri *Streptococcus mutan* dan Probiotik III mengandung bakteri *Lactobacillus casei strain Shirota*. Bakteri *Lactobacillus casei Shirota* memiliki mekanisme antibakteri berupa kemampuan dalam berkompetisi dengan bakteri patogen yang menyebabkan kematian bakteri patogen.⁹

Dari pernyataan di atas dapat disimpulkan mekanisme antibakteri yang paling besar terdapat pada probiotik I jika dibandingkan dengan probiotik II dan III karena probiotik I memiliki mekanisme antibakteri dengan cara memproduksi substansi antibakteri seperti asam organik berupa hydrogen peroksida dan memiliki kemampuan untuk berkompetisi dengan bakteri patogen pada saat perlekatannya pada permukaan gigi serta memodulasi lingkungan rongga mulut dengan cara memodulasi pH rongga mulut.¹ Probiotik III memiliki daya hambat bakteri paling kecil karena probiotik III mengandung bakteri *Lactobacillus casei Shirota* dan bakteri ini tidak dapat bertahan hidup lebih lama pada suhu 37°C

sehingga bakteri mengalami kematian lebih cepat jika dibandingkan dengan bakteri yang terdapat pada probiotik I dan II.⁵

Bakteri probiotik merupakan bakteri asam laktat yang menghasilkan senyawa metabolit dan berfungsi sebagai antibakteri. Proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat mempunyai ciri khas, yaitu dengan penurunan nilai pH. Efek antibakteri dari asam organik merupakan akibat dari turunnya nilai pH. Asam asetat dan asam propionat yang dihasilkan oleh strain bakteri asam laktat melalui fermentasi heterofermentatif berinteraksi dengan sel membran dan mengakibatkan asidifikasi intraseluler dan denaturasi protein bakteri patogen.⁵

Kandungan minuman probiotik yang berupa asam laktat merupakan bakteri yang tidak berspora, memfermentasi karbohidrat dengan memproduksi asam laktat, tahan terhadap asam dalam keadaan *anaerobic* dan katalase negatif. H₂O₂ memiliki efek bakterisidal berupa terjadinya oksidasi pada sel bakteri, yaitu gugus sulfhidril dari protein sel sehingga mendenaturasi sejumlah enzim dan terjadinya peroksidasi dan lipid membran meningkatkan permeabilitas membran. CO₂ bersifat antibakteri dengan menghambat dekarbosiilasi enzimatis.²

Aktivasi antibakteri dari asam lemak mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutan* disebabkan oleh molekul yang tidak terdisosiasi, karena pH mempengaruhi aktivitasnya, semakin rendah pH semakin kuat dan cepat efek antibakterinya. Bakteri asam laktat juga bersifat bakteriosin, yaitu peptida yang bersifat antibakteri, toksin yang berupa protein dapat mencegah pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan*. Aktivitas bakterisidal melalui destabilisasi fungsi permeabilitas membran sel.¹

Pada penelitian ini telah terbukti bahwa berbagai minuman probiotik memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutan* secara *in vitro* dan terdapat perbedaan daya antibakteri pada setiap minuman probiotik. Probiotik I merupakan probiotik yang memiliki daya antibakteri paling kuat dalam menghambat *Streptococcus mutan*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Minuman probiotik terbukti berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan in vitro*.
2. Terdapat perbedaan daya antibakteri pada setiap minuman probiotik dan probiotik I mengandung daya antibakteri yang paling kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan* dibandingkan probiotik II dan III *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bushan, J., Chacra, S., 2010, Probiotics-Their Role in Prevention of Dental Caries, *J Oral Health Comm Dent.*, 4(3) : 78-82.
2. Caglar, E., Kargul, B., Tanboga, I., 2005, Bacteriotherapy and Probiotics Role on Oral Health., *Oral dis* ,11: 131-137.
3. Koduganti, R.R., Sandeep, N., Guduguntla, S., Ghorti, C., 2011, Probiotics and Prebiotics in Periodontal Therapy, *Intl JDR.*, 22(2): 324-330.
4. Lorian, V., 2005, *Antibiotics in Laboratory Medicine.*, 5^{ed}., Baltimore : Lippincott Williams dan Wilkins, p. 5, 9-11, 16-17.
5. Rosiana A.D., Noor Erma, N.S., isnaeni., 2008, Pengaruh Asam-Asam Organic Terhadap Pertumbuhan Lactobacillus Acidophilus, Lactobacillus Bulgarius Dan Lactobacillus Casei (Bakteri Asam Laktat)., *Majalah Farmasi Airlangga*,6(2), 53-56.
6. Selwitz, R., Ismail., Amid,I., Pitts., Nigel, B., 2007, Dental Caries, *The Lancet.*, 369:51-59.
7. Samaranayake., 2006, *Essential Microbiology for Dentistry.*,3rded., Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, p.15-6,258-68,270,272, 337.
8. Shimauchi, H., Mayanagi, G., Nakaya, S., Minamibuchi, M., Ito, Y., Yamaki, K., 2008, Improvement of Periodontal Condition by Probiotics with Lactobacillus salivarius WB 21 : A Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Study, *J Clin Periodontol.*, 35:897-905.
9. Stamatova, I., Kari, K., Meurman, H., 2007, In Vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of Putative Probiotic Lactobacilli Against Oral Pathogens, *Intl J Probiotics and Prebiotics.*, 2(4):225-232.
10. Stamatova, I., Jukka, H., 2009, Probiotics: Health Benefit in the Mouth, *Am J Dent.*, 22:329-338.
11. Syahrijuita., Rahadjo,S.P., Djufri,N.I., dan Djamin.R., 2011, Perbandingan Efektifitas Beberapa Pelarut Terhadap Kelarutan Cerumen Obturans Secara *In Vitro.*, *Majalah kesehatan pharma Medika.*, 3(1), 217-219.
12. Tortora , Gj., Funke, B.R., Case, C.L., 2001, *Microbiologi an Intorduction* ,7^{ed}., USA : Addison Wesley Longman, Inc, 551-555.