

Differences Between Before and After Gargling 75% Concentration of Honey Towards Streptococcus mutans Growth in Saliva of Children Aged 10-12 Years Old

Perbedaan Sebelum dan Sesudah Berkumur Madu Konsentrasi 75% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* di Saliva Anak Usia 10-12 Tahun

Eka yunitasari¹, Likky Tiara Alphiati²

¹Mahasiswa Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

²Dosen Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

EMAIL: neetha_sari@yahoo.com

Abstract

Primary school aged children have high caries risk, due to their tendency to consume cariogenic diet. They are still not aware of maintaining oral hygiene. Streptococcus mutans has an important role in tooth caries formation. Streptococcus mutans is a kind of cariogenic microorganism which is able to ferment carbohydrate. Honey gargling can restore saliva function. Honey is one of natural resources which has antibacterial property. Honey contains hydrogen peroxide which as produced by natural compounds such as oxide glucose and phenol. The aim of the his study is to determine the difference between before and after honey gargling with 75% concentration as antibacterial toward Streptococcus mutans growth in saliva of 10-12 years old children.

The study used a clinical trial design continued with laboratory trial with one group pretest posttest design. There were 26 children aged 10-12 years old as subjects. At first, subjects were given aquades gargling. After one week, they were given 75% honey concentration. Saliva were taken after gargling. Furthermore, researcher counted the amount of Streptococcus mutans by Colony Counter with Colony Forming Unit (CFU). The normality test used Shapiro-Wilk, then continued by Wilcoxon test.

Wilcoxon test showed the significant difference ($p < 0,05$), so there were differences between Streptococcus mutans growth in saliva of children aged 10-12 years old before and after 75% concentration honey gargling.

Keywords : Children aged 10-12 years, saliva, honey, Streptococcus mutans

Abstrak

Anak usia sekolah dasar berisiko karies tinggi, ini disebabkan mereka mempunyai kebiasaan mengkonsumsi makanan dan minuman kariogenik, dan anak masih kurang mengetahui untuk memelihara kebersihan gigi dan mulut. *Streptococcus mutans* adalah salah satu faktor penting dalam proses karies gigi. *Streptococcus mutans* adalah kuman yang kariogenik karena mampu meragikan karbohidrat. Berkumur madu adalah cara yang dapat mengembalikan fungsi saliva. Madu adalah salah satu hasil alam yang mempunyai aktivitas antibakteri. Madu mengandung hidrogen peroksida yang diproduksi oleh senyawa alami glukosa oksidase dan senyawa fenol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan sebelum dan sesudah berkumur madu konsentrasi 75% sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* di saliva anak usia 10-12 tahun.

Desain penelitian ini adalah uji klinis dan uji labolatoris dengan rancangan *One Group Pretest Posttest*. Jumlah subyek penelitian ini sebanyak 26 anak usia 10-12 tahun. Hari pertama, subyek mendapat perlakuan berkumur aquades. Selang satu minggu subyek berkumur madu konsentrasi 75%. Setiap berkumur subyek di ambil salivanya. Kemudian dilakukan perhitungan *Streptococcus mutans* menggunakan *Colony Counter* dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU). Data yang diperoleh dianalisis *Shapiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Wilcoxon*.

Uji *Wilcoxon* menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 10-12 tahun sebelum dan sesudah berkumur madu konsentrasi 75%.

Kata kunci: Anak usia 10-12 tahun, Saliva, Madu, *Streptococcus mutans*

Pendahuluan

Prevalensi karies masih cukup tinggi di seluruh dunia. Telah dilaporkan WHO (2012) bahwa di dunia sekitar 60-90% dari anak usia sekolah mengalami karies gigi. Data Risdas tahun 2007, prevalensi karies aktif di Indonesia sebesar 46,5% mulai dari karies gigi dan penyakit periodontal, dan pada tahun 2013 penduduk Indonesia masih mempunyai masalah kesehatan gigi dan mulut sebanyak 25,9% dalam 14 bulan terakhir serta pada tahun 2013 dikatakan bahwa karakteristik kelompok umur anak usia 5-9 tahun dan 10-14 tahun dalam 12 terakhir mengalami permasalahan gigi dan mulut sebesar 28,9% dan 25,2%, dari persentase tersebut masing-masing hanya 35,1% dan 28,3% yang mendapat perawatan dari tenaga medis gigi. Permasalahan tersebut menunjukkan

prevalensi yang cukup besar bagi permasalahan kesehatan gigi dan mulut anak yang berdasarkan karakteristik kelompok umur tertentu untuk tingkat nasional.

Masa anak merupakan periode perkembangan yang cepat dan menjadikan perubahan dalam banyak aspek perkembangan. Kriteria penahapan perkembangan di antaranya ada fase masa usia sekolah dasar, yaitu anak berusia 6 tahun hingga 12 tahun¹. Masa usia sekolah dasar biasanya anak mempunyai kebiasaan mengkonsumsi makanan dan minuman bersifat kariogenik baik di sekolah maupun di rumah, serta pada usia tersebut anak masih kurang mengerti dan mengetahui untuk memelihara kebersihan gigi dan mulut, sehingga pada usia tersebut anak umumnya mempunyai risiko terhadap karies yang tinggi².

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam karbohidrat yang diragikan. Proses karies terjadi apabila terdapat empat faktor yang mempengaruhi yaitu bakteri, substrat atau karbohidrat makanan, lingkungan dan gigi itu sendiri, serta waktu³.

Bakteri biofilm di dalam rongga mulut yang mempunyai peran penting dalam proses karies salah satunya yaitu bakteri *Streptococcus mutans*⁴. *Streptococcus mutans* adalah bakteri patogen mulut yang paling penting. *Streptococcus mutans* merupakan kuman yang kariogenik karena mampu meragikan karbohidrat. *Streptococcus mutans* mampu membuat polisakarida ekstra sel yang sangat lengket dari karbohidrat makanan. Makanan dan minuman karbohidrat dengan berat molekul yang rendah seperti gula akan segera diserap ke dalam plak dan dimetabolisme dengan cepat oleh bakteri, sehingga dapat menurunkan pH dengan cepat sampai pada level yang dapat menyebabkan demineralisasi enamel³.

Kerentanan gigi terhadap demineralisasi enamel banyak tergantung pada lingkungannya, maka peran saliva sangat besar sekali. Saliva memiliki peran penting untuk gigi. Fungsi saliva dalam melindungi gigi yaitu dengan menghambat proses demineralisasi enamel yang ada pada gigi dengan kandungan yang ada pada saliva di antaranya pelikel protein, ion kalsium dan fosfat. Beberapa glikoprotein yang ada di saliva dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme ke pelikel enamel dan menghalangi pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Saliva juga mempunyai kandungan bikarbonat atau karbonat yang bertanggung jawab terhadap sistem *buffer* untuk netralisasi asam secara cepat⁵. Bakteri *aerob* yang paling banyak ditemui di saliva yaitu

bakteri *Streptococcus*⁶. Banyaknya bakteri yang ada di dalam rongga mulut maka akan menghambat fungsi saliva di dalam rongga mulut³.

Berkumur ada cara yang dapat dilakukan agar jumlah bakteri kariogenik berkurang dan fungsi saliva tidak terhambat di dalam rongga mulut. Madu adalah salah satu larutan yang dapat digunakan untuk berkumur.

Madu mengandung nektar dari tanaman yang dikumpulkan oleh lebah madu. Madu adalah salah satu obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat. Madu adalah salah satu hasil alam yang mempunyai aktivitas antibakteri sehingga dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Madu diketahui mempunyai zat antibakteri⁷. Madu mempunyai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*⁸. Madu asli mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan bakteri *Lactobacillus*, efek ini tergantung dari konsentrasi madu yang digunakan⁹. Aktivitas antibakteri madu dikaitkan dengan hidrogen peroksida yang diproduksi oleh senyawa alami glukosa oksidase dan senyawa fenol¹⁰.

Bahan dan Cara

Penelitian ini adalah penelitian uji klinis dan uji labolatoris untuk menguji pengaruh madu sebagai daya antibakteri pada saliva anak usia 10-12 tahun dengan rancangan *One Group Pretest Posttest*. Subyek penelitian yaitu seluruh anak SD usia 10-12 tahun di SD Ngrukeman, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 26 anak.

Subyek sebanyak 26 anak tersebut diberi perlakuan sebanyak 2 kali dengan selang waktu 1 minggu. Masing-masing anak untuk hari pertama (kelompok kontrol berkumur aquades) dan hari kedua

(kelompok uji berkumur madu konsentrasi 75%). Sebagai kriteria inklusi adalah Anak berusia 10-12 tahun, orang tua bersedia mengisi *informed consent*, bersedia menjadi subyek penelitian tanpa terpaksa, tidak mempunyai penyakit di rongga mulut seperti herpes, infeksi gusi, stomatitis, pasien tidak ada gangguan sistem syaraf, OHIS < 1,3 dan DMF-T < 2,7.

Sebagai Variabel bebas pada penelitian ini adalah madu konsentrasi 75% sebagai larutan kumur, dan variabel terikat yaitu jumlah bakteri *Streptococcus mutans* pada sampel saliva. Variabel Terkontrol yaitu cara berkumur, lama berkumur, cara sikat gigi dan sikat gigi yang digunakan, anak usia 10-12 tahun SD Ngrukeman, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta, jenis biskuit dan jumlah biskuit yang dikonsumsi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Madu 75%, Saliva yaitu saliva dari subyek penelitian, Agar TSA (*Tripticase Soy Agar*), kapas, masker dan *handscoon*, aquades dan larutan BHI (*Brain Heart Infusion*).

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah cawan petri, *counter*, inkubasi, pot sio, lampu spiritus, *postrake*, ose, tabung reaksi, autoklav, pipet ukur, oven untuk sterilisasi, alat diagnostik, *nierbekken*, gelas untuk berkumur, sikat gigi.

Pelaksanaan penelitian diawali dengan tahap persiapan yaitu Mengurus surat izin penelitian ke SD Ngrukeman, Taman Tirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta, mengurus *ethical clearance* untuk jalannya penelitian, persiapan subyek yaitu seluruh orang tua subyek penelitian diwajibkan mengisi *informed consent* sebagai tanda persetujuan. Subyek kemudian diberi pengarahan dan penjelasan tentang apa saja yang akan dilakukan saat penelitian, selanjutnya dilanjutkan seleksi subyek yaitu

subyek penelitian yang terpilih yaitu subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, selanjutnya tahap pelaksanaan yaitu pemeriksaan intra oral dan ekstra oral, subyek diberikan disklosing pada permukaan giginya. Selama penelitian berlangsung seluruh subyek diinstruksikan untuk menyikat giginya dengan sikat gigi konvensional selama 2 menit tanpa pasta gigi sebelum dilakukan penelitian sebagai standarisasi seluruh subyek. Subyek diberitahu cara memegang sikat giginya seperti pensil, subyek diberitahu juga cara menyikat gigi dengan menggunakan teknik merah putih yaitu menyikat gigi dari daerah gusi ke gigi, menggosok giginya dimulai dari gigi posterior ke anterior dan berakhir pada bagian gigi posterior lainnya¹¹, kemudian subyek diinstruksinya berkumur dengan aquades setelah selesai menyikat giginya. Penyikatan gigi sebagai kontrol plak pada subyek penelitian. Tahap yang kedua yaitu Seluruh subyek masing-masing diminta tidak untuk mengkonsumsi makanan selama 1 jam setelah sikat gigi¹². Masing-masing subyek diberikan biskuit dengan jumlah sama yang mengandung karbohidrat dan glukosa untuk dikonsumsi oleh masing-masing subyek kelompok. Untuk 10 menit kemudian subyek masing-masing kelompok diinstruksikan untuk tidak mengkonsumsi makanan dan minuman selain yang diinstruksikan peneliti¹³. Penelitian hari pertama subyek diinstruksikan untuk berkumur aquades (kelompok kontrol), sedangkan 1 minggu berikutnya yaitu penelitian hari ke dua subyek diinstruksikan berkumur madu konsentrasi 75% (kelompok uji). Setiap kali berkumur baik pada penelitian pertama dan ke dua dilakukan selama 30 detik sebanyak 10 ml. Mula-mula masukan larutan kumur sebanyak 5 ml ke dalam mulut, lalu dengan tekanan kuat arahkan ke seluruh permukaan dan lekuk gigi selama 15 detik, selanjutnya 5 ml berikutnya dilakukan dengan cara yang

sama¹⁴. Setelah berkumur seluruh subyek diambil sampel saliva sebanyak 15 ml yang kemudian di tampung ke pot sio. Sampel dimasukkan ke tabung reaksi kemudian di gojok dengan postrake selama 1 menit.

Sampel sebanyak 0,5 ml dilakukan pengenceran berseri dalam sejumlah tabung yang mengandung 4,5 ml medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI), selanjutnya sampel 0,5 ml dari tabung tersebut dilakukan pengenceran kedua dengan tabung yang berisi BHI sebanyak 4,5 ml, begitu seterusnya hingga tabung pengenceran terakhir 0,5 ml sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , dan seterusnya¹⁵. Masukkan 0,5 ml dari masing-masing tabung pengenceran ke dalam Agar TSA (*Trypticase Soy Agar*) sebagai tempat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Media di inkubasi 37°C selama 24 jam. Perhitungan jumlah koloni bakteri dengan *Colony Counter*. Perhitungannya dengan mengkalikan jumlah koloni pada media TSA dengan faktor pengenceran yang sesuai. Perhitungan dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU) dalam ml saliva¹⁵.

Analisis data menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena pada penelitian ini subyek yang digunakan ≤ 50 , kemudian dilanjutkan uji hipotesis yaitu dengan uji *Wilcoxon*.

Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada tanggal 24 Oktober sampai 31 Oktober 2014 untuk mengetahui pengaruh madu sebagai daya antibakteri pada saliva anak usia 10-12 tahun. Hasil yang didapat adalah hasil dari perhitungan koloni *Streptococcus mutans* didapat berdasarkan pengamatan makroskopis yang tumbuh pada cawan petri. Pengamatan makroskopis tersebut dilanjutkan dengan menghitung jumlah koloni *Streptococcus mutans* dengan *Colony Counter* seperti gambar dibawah ini.



Hasil perhitungan yang didapat dimasukkan kedalam tabel data untuk kemudian dilakukan analisis statistik.

Tabel 1. Hasil rerata dan standar deviasi angka *Streptococcus mutans* berkumur aquades dan berkumur madu 75%

Koloni <i>Streptococcus mutans</i>	Mean	Standar Deviasi	Jumlah
Kel I (aquades)	3318,23	1167,77	26
Kel II (Madu75%)	1496,42	646,84	26

Tabel 1, menunjukkan bahwa sampel pada kelompok I yang berkumur aquades dan kelompok II berkumur madu 75% berjumlah sama yaitu sebanyak 26 sampel. Hasil rerata angka *Streptococcus mutans* tertinggi pada kelompok I (berkumur aquades) yaitu 3318,23 dengan angka penyimpangan hasil pengamatan terhadap rata-rata (standar deviasi) sebesar 1167,77 dan pada kelompok II (berkumur madu 75%) hasil rerata yang dimiliki yaitu 1496,42 dengan angka penyimpangan yang dimiliki terhadap rata-rata (standar deviasi) sebesar 646,842. *Mean* adalah rata-rata hitung yang merupakan ukuran nilai tengah yang dipergunakan untuk rata-rata populasi atau sampel, sedangkan standar deviasi adalah penyimpangan atau selisih nilai hasil pengamatan dengan rata-rata. Standar deviasi dapat memberikan gambaran tentang

penyimpangan yang terjadi pada setiap nilai hasil pengamatan terhadap rata-rata suatu distribusi serta dapat menyatakan perbedaan penyimpangan beberapa distribusi²⁰.

Tabel 2. Uji normalitas berkumur aquades dan berkumur madu konsentrasi 75%

<i>Shapiro-Wilk</i>			
	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
Kel I (Aquades)	0,986	26	0,970
Kel II (Madu 75%)	0,866	26	0,003

Keterangan: $P > 0,05 = \text{Normal}$

Berdasarkan data pada tabel 2, kelompok I (berkumur aquades) menunjukkan angka signifikansi 0,970 ($p > 0,05$), dan kelompok II (berkumur madu 75%) menunjukkan angka signifikansi 0,003 ($p < 0,05$). Hal tersebut menguatkan bahwa distribusi data tidak normal sehingga dilanjutkan ke uji Wilcoxon. Uji Wilcoxon dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pertumbuhan *Streptococcus mutans* di saliva anak usia 10-12 tahun antara kelompok I (berkumur aquades) dengan II (berkumur madu 75%).

Tabel 4. Hasil uji Wilcoxon

<i>Test Statistics^b</i>	
Berkumur Madu 75%	-
Berkumur Aquades	-
<i>Z</i>	-4,330 ^a
<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	0,000

Hasil statistis dari uji Wilcoxon pada tabel 4, menunjukkan bahwa didapatkan hasil dengan signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), dengan demikian terdapat perbedaan pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang bermakna antara kelompok I (berkumur aquades) dengan kelompok II (berkumur madu 75%).

Diskusi

Hasil penelitian tentang pengaruh berkumur madu konsentrasi 75% terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* di saliva anak usia 10-12 tahun menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* pada saliva setelah berkumur madu konsentrasi 75% terjadi penurunan secara signifikan atau bermakna. Penelitian madu terhadap *streptococcus mutans* secara eksperimental oleh Ghabanchi, dkk., (2010)⁸ yang menyatakan bahwa madu dengan konsentrasi 75% mempunyai daya hambat terhadap *Streptococcus mutans*. Penelitian tersebut mengatakan *Streptococcus mutans* diisolasi dari 70 sampel saliva, kemudian diteliti dengan difusi agar dan tes mikrodilusi kaldu. Hasil yang didapat bahwa Madu 75% memiliki nilai yang signifikan dan memiliki zona hambat terhadap *Streptococcus mutans*. Motamayel, dkk., (2013)⁹ menambahkan bahwa secara *in vitro* madu mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

Penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada penelitian ini disebabkan oleh beberapa faktor yang terkandung di dalam madu. madu memiliki kandungan hidrogen peroksida yang diproduksi oleh senyawa alami glukosa oksidase dan senyawa fenol, dan faktor nonperoksida, serta komponen fenolik lainnya yang dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif¹⁰. Madu juga mempunyai kemampuan mengaktifkan enzim glukosa oksidase yang mengkatalisis glukosa membentuk asam glukonat dan hidrogen peroksida¹⁶. Madu memiliki efek antimikroba pada mutans *Streptococcus* setelah jeda waktu tertentu. Hasil dapat disebabkan oleh produksi hidrogen peroksida, penghambatan aktivitas glukosiltransferase atau kehadiran polifenol dalam madu dan menyarankan bahwa madu yang dapat digunakan untuk mengembangkan produk kebersihan mulut seperti pasta gigi dan obat kumur untuk

mencegah karies gigi¹⁷. Penurunan jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada penelitian ini dapat juga disebabkan pengaruh penggunaan madu sebagai obat kumur. Obat kumur digunakan sebagai tambahan untuk kebersihan rongga mulut secara mekanik. berkumur larutan ekstrak propolis (*Apis mellifera*) yang diencer memiliki aktivitas antimikroba secara *in vivo* terhadap *Streptococcus mutans* yang ada di dalam rongga mulut¹⁸.

Penelitian ini menggunakan saliva sebagai sampel, dengan saliva bakteri yang ada dalam rongga mulut dapat diketahui khususnya bakteri *Streptococcus mutans*. Mikroorganisme yang paling banyak ditemukan dalam saliva yaitu genus *Streptococcus*, sehingga pada penelitian ini saliva yang ada diamati pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* dalam setiap mililiternya dengan *Colony Counter*⁶. Saliva memiliki fungsi sebagai pengaruh *buffer* yang dapat menetralkan asam di rongga mulut¹⁹.

Hasil analisis menggunakan uji *Wilcoxon* didapatkan adanya perbedaan yang signifikan pada hasil penelitian, ini juga dapat diartikan bahwa terdapat daya hambat berkumur madu konsentrasi 75% terhadap pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* di saliva anak usia 10-12 tahun serta berkumur madu konsentrasi 75% mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 10-12 tahun jika dibandingkan dengan berkumur dengan aquades. Penelitian ini penggunaan madu sebagai obat kumur dapat menjadi antiseptik alternatif yang dapat dimanfaatkan dalam pencegahan karies gigi. Madu mempunyai rasa yang manis, sehingga sebagai larutan kumur akan digemari oleh anak usia sekolah dasar. Berkumur madu 75% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* di saliva anak usia 10-

12 tahun dan berkumur madu 75% dapat menjadi antiseptik alternatif yang dapat digunakan sebagai obat kumur pada anak usia sekolah dasar.

Kesimpulan

Berkaitan dengan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka peneliti dapat mengambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan signifikan antara sebelum dan sesudah berkumur madu (*Apis mellifera*) konsentrasi 75% terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada saliva anak usia 10-12 tahun
2. Berkumur madu konsentrasi 75% memiliki pengaruh daya antibakteri dan daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* di saliva anak usia 10-12 tahun.

Saran

Dari penelitian diatas, disarankan peneliti selanjutnya yang akan melakukan penelitian serupa hendaknya menambah jumlah subyek penelitian yang lebih banyak supaya validitas terhadap hasil penelitian semakin kuat, selain itu bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian dengan konsentrasi yang berbeda atau dapat dengan menggunakan metode yang berbeda.

Daftar Pustaka

1. Yusuf, S. (2011). *Psikologi Perkembangan Anak dan Remaja*. Bandung: Rosda.
2. Worotitjan, I., Mintjelungan, C. N., & Gunawan, P. (2013). Pengalaman Karies Gigi Serta Pola Makan Dan Minum Pada Anak Sekolah Dasar Di Desa Kiawa Kecamatan

- Kawangkoan Utara. *Jurnal e- GiGi (eG)*, hlm 59-68.
3. Kidd, E. A., & Bechal, S. J. (2012). *Dasar-Dasar Karies Penyakit penanggulangannya (Narlan & Safrida, Penerjemah)*. Jakarta: EGC.
 4. Martinez, R. A., Fujiwara, T., Marin, N. P., Hoshino, T., Wilson, M., & Rodriguez, J. P. (2012). Comparison Of Oral Streptococci Biofilm In Caries-Free And Caries-Affected Preschool Mexican Children. *ISSN*, 25, 0326-4815
 5. Amerongen, A. N., Bolscher, J., & Veerman, E. (2004). Salivary Proteins: Protective And Diagnostic Value In Cariology. *Caries Res*, 38, 247-253.
 6. Ozdabak, N., Akgul, N., Karaoglanoglu, S., & Seven, N. (2012). Identification Of Aerobic Bacterial Flora In Saliva Of Subjects Who Aply to the faculty Of Dentistry In Ataturk University By Using Microbial Indentification System. *Arastima*, 26-30..
 7. Suranto, A. (2004). *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. Tangerang: AgroMedia Pustaka.
 8. Ghabanchi, J., Bazargani, A., Afkar, M. D., Foroshan, S. B., & Ayeen, S. D. (2010). In Vitro Assessment Of Anti-Streptococcus Mutans Potential Of Honey. *IRCMJ*, 12(1): 61-64.
 9. Motamayel, F. A., Hendi, S. S., Alikhani, M. Y., & Khamverdi, Z. (2013). Antibacterial Activity Of Honey On Cariogenic Bacteria. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences*, vol.10, No 1.
 10. Taormina, P. J., Niermira, B. A., & Beuchat, L. R. (2001). Inhibitory Activity Of Honey Against Foodborne Pathogens As Influenced By The Presence Of Hydrogen Peroxide And Level Of Antioxidant Power. *nternational Journal Of Food Microbiology*, 217-225.
 11. Putri, M. H., & dkk. (2010). *Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras Dan Jaringan Pendukung Gigi*. Jakarta: EGC.
 12. Santoso, O., Wardani, A. P., & Kusumasari, N. (2012). Pengaruh Larutan Ekstrak Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap Streptococcus mutans: studi In Vitro dan In Vivo. *Media Medika Indonesiana*, 46(3).
 13. Kusumasari, N. (2012). *Pengaruh Larutan Kumur Ekstrak Siwak (Salvadora Persica) Terhadap pH Saliva*. Semarang: Universitas Diponegoro.
 14. Endarti, Fauzia, & Zuliana, E. (2006). Manfaat Berkumur Dengan Larutan Ekstrak Siwak (*Salvadora Persica*). *Majalah Kedokteran Nusantara*, 39(4).
 15. Rustan, Y. (2012). *Kuantitaa Bakteri Actinomyces di Saliva Anak Dengan Black Stain Pada Permukaan Email Gigi.Tesis*. Jakarta: Universitas Indonesia.
 16. Berg, A. V., Worm, E. v., Van, H. Q., Halkes, S., Hoekstra, M., & Beukelman, C. (2008). An In Vitro Examination Of The Antioxidant And Anti-Inflammatory Properties of Buckwheat honey. *Journal Of Wound Care*, 17(4).

17. NR, Y., BK, G., VK, R., S, T., & S, P. (2014). Antimicrobial Effect Of Honey On Streptococcus mutans Of Dental Plaque. *Journal of Oral health Community Dentistry* , 8(2)72-75.
18. Hegde, K. S., Bhat, S. S., Rao, A., & Sain, S. (2013). Effect of Propolis On Streptococcus mutans Counts: An In vivo Study. *International Journal Of Clinical Pediatric Dentistry* , 6(1):22-25.
19. Young, D. A., Featherstone, J. D., & Budenz, A. W. (2011). Dental Caries And Caries Management. In S. J. Daniel, S. A. Harfst, & R. S. Wilder, *Dental Hygiene Concepts, Cases, and Competencies* (pp. S55-S57). Canada: Mosby Elsevier.
20. Budiarto, Eko. (2001). *Biostatistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat*. Jakarta: EGC