

PENGARUH MENYIKAT MENGGUNAKAN KOMBINASI SIWAK DAN PASTA GIGI TERHADAP FLORA NORMAL AEROB SANTRI AR-RAZI

Destian Fajar Rahmawan^{1*}, Arif Yahya^{2*}, Helmin Elyani^{3*}.

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono No.193, Dinoyo, Kec.
Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65144

*email (co-author): destianrahmawan@gmail.com

Abstract: Oral aerobic bacteria such as *Haemophilus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and *Mycoplasma* spp. has a relation with systemic and respiratory infections. It is important to reduce the number of aerobic bacteria in the oral cavity. The active ingredients of toothpaste and miswak are able to maintain the balance of normal flora in the oral cavity. This study aims to prove the effect of brushing using a combination of toothpaste and miswak on the growth of oral aerobic bacteria. Experimental research with pre and post test group design. Respondents (n = 36) were divided into 2 groups, brushing using toothpaste and brushing using a combination of toothpaste and miswak for 10 days. Saliva and gingival samples were taken before and after treatment and grown on Aerobic Nutrient Agar media. Data were analyzed using paired t-test. Brushing with toothpaste insignificantly increased 51% salivary aerobic bacteria and insignificantly decreased 12% gingival aerobic bacteria. Brushing with the combination of toothpaste and miswak insignificantly increased 57% of salivary aerobic bacteria and insignificantly increased 37% gingival aerobic bacteria. The researcher estimated these results were related by antagonistic potential of the active ingredients and ability of aerobic bacteria to survive.

Keywords: Miswak, toothpaste, aerobic bacteria

Latar Belakang: Bakteri aerob rongga mulut seperti *Haemophilus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* dan *Mycoplasma* spp. memiliki hubungan terhadap infeksi sistemik dan pernapasan. Sehingga penting untuk menurunkan jumlah bakteri aerob rongga mulut. Bahan aktif pasta gigi dan siwak mampu menjaga keseimbangan flora normal rongga mulut. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak terhadap pertumbuhan bakteri aerob rongga mulut. Penelitian eksperimental dengan desain *pre* dan *post test* group. Responden (n = 36) terbagi menjadi 2 kelompok yaitu menyikat menggunakan pasta gigi dan menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari. Sampel saliva dan gingiva diambil sebelum dan setelah perlakuan dan ditumbuhkan pada media *Aerobic Nutrient Agar*. Data dianalisa menggunakan *paired t-test*. Penyikatan dengan pasta gigi tidak signifikan meningkatkan 51% bakteri aerob saliva dan tidak signifikan menurunkan 12% bakteri aerob gingiva. Penyikatan dengan kombinasi pasta gigi dan siwak tidak signifikan meningkatkan 57% bakteri aerob saliva dan tidak signifikan meningkatkan 37% bakteri aerob gingiva. Peneliti menduga, hasil ini berhubungan dengan potensi antagonis bahan aktif dan kemampuan bakteri aerob bertahan hidup.

Kata Kunci: Siwak, pasta gigi, bakteri aerob

PENDAHULUAN

Bakteri aerob rongga mulut memiliki peran terhadap kesehatan tubuh manusia. Beberapa bakteri aerob rongga mulut dapat menyebabkan infeksi pada sistemik dan saluran napas (Patil, Rao, Sanketh, & Amrutha 2013). Pada beberapa penelitian didapatkan 3%-5% endokarditis disebabkan oleh *Haemophilus* spp. (Souder, & Vodzak, 2011). *Mycoplasma* spp. merupakan bakteri aerob rongga mulut yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran napas (Nicolson, 2019). *P. aeruginosa* merupakan contoh bakteri aerob rongga mulut yang dapat menyebabkan infeksi sistemik, serta pada saluran napas seperti kistik fibrosis (Chevalier dkk., 2017). *Haemophilus* spp., *Mycoplasma* spp. dan *P. aeruginosa* memiliki komponen protein antigen yang dapat memicu terjadinya respon inflamasi. Bakteri aerob rongga mulut dapat beradaptasi, tumbuh dan menyebabkan penyakit dalam keadaan tertentu tergantung pada faktor-faktor fisiologi, seperti temperatur, kelembaban, dan adanya zat gizi serta zat inhibitor tertentu. Bakteri aerob rongga mulut seperti *Haemophilus* spp. dan *P. aeruginosa* dapat masuk ke aliran darah melalui jaringan rongga mulut yang mengalami kerusakan dan juga beberapa bakteri aerob seperti *P. aeruginosa* dan *Mycoplasma* spp. dapat masuk ke saluran pernapasan bagian bawah melalui mikroaspirasi. Higienitas rongga mulut yang buruk dapat meningkatkan kolonisasi bakteri aerob rongga mulut, sehingga meningkatkan peluang bakteri menginvasi daerah lain dan menyebabkan peradangan pada jaringan tubuh (Brooks, Carroll, Butel, & Mietzner, 2012). Sehingga dalam hal ini diperlukan upaya untuk menurunkan jumlah bakteri aerob rongga mulut.

Bahan aktif pasta gigi mampu mengendalikan perkembangan bakteri aerob yang berpotensi sebagai patogen. Pasta gigi mengandung beberapa bahan aktif seperti kalsium bikarbonat, *Sodium Lauryl Sulfat* (SLS) dan fluoride yang mampu menurunkan kolonisasi bakteri aerob rongga mulut. Kalsium bikarbonat berfungsi menghambat pertumbuhan dan perlekatan bakteri aerob serta mampu menetralkan enzim urease yang dihasilkan dari metabolisme bakteri aerob seperti pada *P. aeruginosa* (Anbu, Kang, Shin, & So, 2016). SLS mampu mempertahankan pH saliva dengan menurunkan suasana asam yang dihasilkan oleh fermentasi bakteri aerob rongga mulut seperti *P. aeruginosa* dan *Haemophilus* spp. (Yustika, 2016). Fluoride memiliki kemampuan mengurangi produksi lipopolisakarida yang dimiliki oleh bakteri aerob seperti *Haemophilus* spp., *Mycoplasma* spp. dan *P. aeruginosa* (Aoun, Darwiche, Al Hayek, & Doumit 2018). Namun, ketiga bahan aktif dalam pasta gigi tersebut tidak memiliki efek bakterisidal, yakni kemampuan untuk membunuh bakteri aerob rongga mulut.

Salvadora persica (siwak) memiliki bahan aktif sodium bikarbonat, fluoride, dan *Benzyl isothiocyanate* (BITC). Sodium bikarbonat berfungsi untuk menjaga pH rongga mulut sehingga mampu mempertahankan keseimbangan bakteri rongga mulut termasuk *Haemophilus* spp., *Mycoplasma* spp. dan *P. aeruginosa* (Kusumasari, 2012). Fluoride mampu berikatan dengan enzim glikolitik bakteri aerob sehingga dapat menyebabkan stress oksidatif pada bakteri aerob rongga mulut (Abhary, & Al-Hazmi 2016). BITC memiliki kemampuan untuk merusak membran bakteri sehingga dapat menyebabkan kematian pada bakteri aerob rongga mulut seperti *P. aeruginosa* dan *Haemophilus* spp. (Sawarkar, Anisha, & Fernandes, 2020). Sehingga dalam hal ini bahan aktif BITC pada siwak memiliki efek bakterisidal yang tidak dimiliki oleh pasta gigi.

Pada penelitian Sukma, Elyani & Yahya (2020) didapatkan penurunan bakteri anaerob pada mukosa gingiva yang ditumbuhkan pada media *Anaerobic Nutrient Agar*. Peneliti ini ingin membuktikan pengaruh dari kombinasi pasta gigi dan siwak terhadap bakteri aerob rongga mulut pada santri Pondok Pesantren Ar-Razi dengan menggunakan metode kultur *Aerobic Nutrient Agar* (NA). Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi tentang pengaruh kombinasi menyikat dengan pasta gigi dan siwak terhadap pertumbuhan bakteri aerob pada saliva dan mukosa gingiva, serta sebagai pertimbangan dalam upaya

menjaga kebersihan rongga mulut.

METODE

Desain Penelitian

Desain penelitian menggunakan eksperimental laboratorium *pre* dan *post test group* secara *in vivo*. Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2019 di Pondok Pesantren Ar-Razi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Siwak dalam penelitian ini telah bersertifikat dari Balai Materia Medica Batu dengan nomor 074/ 107A/ 102.7/2019. Komisi Etik Penelitian Universitas Muhammadiyah Malang telah menyetujui penelitian ini dengan No. E.5.a./071/KEPK-UMM/V/20189 pada tanggal 28 Mei 2019.

Responden Penelitian

Rumus populasi finit (diketahui) digunakan untuk mendapatkan jumlah responden dari populasi santri pria dan wanita FK UNISMA di Pondok Pesantren Ar-Razi Malang yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot N \cdot p(1-p)}{d^2(N-1) + Z_{\alpha}^2 p(1-p)}$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel

N = Jumlah populasi

Z_{α}^2 = Harga kurva normal yang tergantung dari harga nilai alpha ($Z_{\alpha 0,05} = 1,96$)

p = Perkiraan proporsi (jika tidak diketahui dianggap 50%)

d = Delta, presisi absolut atau *margin of error* yang diinginkan (1-5%)

Responden diambil berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi mencakup santri pria dan wanita di Pondok Pesantren Ar-Razi FK UNISMA yang tinggal minimal selama 6 bulan, berusia 19-21 tahun, bersedia mematuhi syarat perlakuan tidak melakukan perawatan gigi ke dokter gigi 6 bulan terakhir dan tidak memakai kawat gigi, tidak mengalami sakit gigi atau sariawan dalam 3 bulan terakhir, tidak merokok dan minum alkohol, tidak mengonsumsi antibiotik, kortikosteroid dan kemoterapi dalam 3 bulan terakhir, kooperatif dan kondisi gigi yang sehat. Kriteria eksklusi mencakup keluar dari Pondok Pesantren Ar-Razi FK UNISMA, tidak bersedia mematuhi syarat perlakuan selama 10 hari, tidak bersedia dilakukan pengambilan sampel saliva dan mukosa gingiva, mengalami sakit gigi atau sariawan dalam 3 bulan terakhir, meminum antibiotik, kortikosteroid dan kemoterapi dalam 3 bulan terakhir.

Berdasarkan rumus finit dan kriteria yang telah ditetapkan, didapatkan responden sejumlah 36 orang. Kemudian responden dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok 1 dan 2 diberi perlakuan sama yakni menyikat dengan pasta gigi sebelum sarapan dan malam sebelum tidur. Namun pada kelompok 2 dikombinasi dengan siwak sebagai sikat gigi sebelum wudhu shalat wajib 5 waktu yaitu subuh, dzuhur, ashar, maghrib dan isya'. Responden yang sedang menstruasi tetap menggunakan siwak sesuai shalat wajib 5 waktu. Sikat gigi dan pasta gigi yang digunakan dibuat sama dan dilakukan selama 10 hari. Metode penggunaan sikat gigi dan siwak menggunakan teknik bass dan dilakukan pengawasan melalui grup media sosial (Estini, 2017).

Pengambilan Sampel Responden

Pengambilan sampel dari mukosa gingiva melalui metode *swab* supra gingiva molar menggunakan alat *cotton swab*. Sampel mukosa gingiva yang diambil merupakan gingiva molar kedua pada gingiva bagian bawah yang sering digunakan untuk mengunyah. *Cotton swab*

yang telah digoreskan pada mukosa gingiva selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan normal saline (NS) dan ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*. Pengambilan sampel dari saliva menggunakan metode *spitting* yakni dengan mengumpulkan saliva di bagian dasar mulut dengan kondisi mulut tertutup dan dikeluarkan langsung ke tabung reaksi sebanyak 2 ml. tabung reaksi selanjutnya akan ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*. Sampel mukosa gingiva dan sampel saliva akan disimpan dalam lemari pendingin.

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) sebagai Media Pertumbuhan Bakteri Aerob

Pembuatan media Nutrient Agar (NA) dilakukan dengan cara mengukur 250 ml aquades dengan gelas ukur kemudian dituang ke dalam gelas beker 250 ml. Nutrient Agar (NA) diambil menggunakan spatula sebanyak 2,5 gr. Tahap selanjutnya, pencampuran aquades dan nutrient agar dengan pemanasan hingga larut. Kemudian dituangkan pada tabung reaksi sebanyak 5-10 ml. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah selesai disterilisasi, dinginkan di enkas dan tuang pada cawan petri steril sebanyak 4ml. Kemudian ditambahkan sampel saliva dan gingiva ke dalam cawan petri secara terpisah menggunakan mikropipet. Pada tiap cawan petri terisi 10 µL cairan sampel saliva maupun gingiva. Selanjutnya dilakukan proses inokulasi bakteri menggunakan ose. Lalu cawan petri diletakkan dalam inkubator selama minimal 24 jam pada suhu 37°C (Saha, Misra, Tiwari & Prasad 2016). Tahap terakhir, dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter* (Difco, dkk., 2009).

Analisis Data

Data dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas menggunakan SPSS. Selanjutnya dilakukan analisa data menggunakan *paired T-Test*. Pengujian kenormalan data dilakukan menggunakan *Shapiro Wilk*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas > *level of significance* ($\alpha = 5\%$) maka data dinyatakan terdistribusi normal. Pada pengujian normalitas data didapatkan hasil nilai probabilitas > α (5%), sehingga data pertumbuhan bakteri aerob pada saliva dan gingiva sebelum dan setelah menyikat dengan pasta gigi serta sebelum dan setelah menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak terdistribusi normal.

HASIL

Karakteristik Responden

Pada penelitian ini didapatkan karakteristik responden seperti pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Karakteristik Responden Penelitian

Karakteristik Responden	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan	
Kelompok	1	2	1	2
Jumlah responden	- 9 pria - 9 wanita	- 9 pria - 9 wanita	- 9 pria - 9 wanita	- 9 pria - 9 wanita
Usia (tahun)	19-21	19-21	19-21	19-21
Perlakuan	Menyikat dengan pasta gigi	Menyikat dengan pasta gigi dan siwak	Menyikat dengan pasta gigi	Menyikat dengan pasta gigi dan siwak
Lama Perlakuan	10 hari	10 hari	10 hari	10 hari
Sampel yang diambil	Saliva, gingiva	Saliva, gingiva	Saliva, gingiva	Saliva, gingiva

Hasil Pemeriksaan Bakteri Aerob pada Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Pada penelitian ini didapatkan hasil jumlah koloni bakteri aerob pada saliva dan gingiva setelah menyikat menggunakan pasta gigi. Adanya peningkatan dan penurunan koloni bakteri aerob dapat dilihat dari nilai rerata sebelum dan setelah perlakuan. Nilai probabilitas (*p value*)

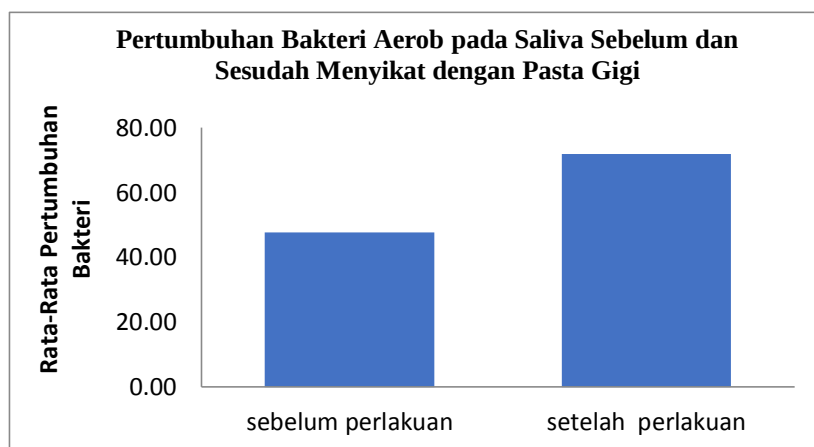
yang didapatkan pada *paired sample t-test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan apabila < 0.05 . **Tabel 2.** dan **Gambar 1.** menunjukkan pertumbuhan bakteri aerob pada saliva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi.

Tabel 2. Pertumbuhan Bakteri Aerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Penyikatan dengan Pasta Gigi	N	Min	Max	Rerata $\pm$ SD	<i>p value</i>
Sebelum Perlakuan	18	12.60	155.00	47.64 $\pm$ 30.27	0.082
Setelah Perlakuan	18	8.80	162.80	71.86 $\pm$ 48.36	

Keterangan: N: jumlah responden; Min: nilai minimal pertumbuhan bakteri aerob; Max: nilai maksimal pertumbuhan bakteri aerob; Rerata $\pm$ SD: rata-rata pertumbuhan bakteri aerob dan simpangan baku; *P value*: nilai probabilitas *paired t-test*.

Tabel 2. menunjukkan pertumbuhan bakteri aerob pada cawan petri dari sampel saliva responden yang menyikat dengan menggunakan pasta gigi dan dihitung dengan *colony counter*. Data diuji dengan menggunakan *paired sample t-test* dan menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0.05$).



Gambar 1. Histogram Rerata Bakteri Aerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi Sebelum dan Setelah Perlakuan

Gambar 1. menunjukkan rerata pertumbuhan bakteri aerob pada saliva responden yang menyikat dengan pasta gigi setelah perlakuan lebih besar dibanding sebelum perlakuan. Data menunjukkan adanya peningkatan bakteri aerob sebesar 51% pada saliva responden setelah menyikat menggunakan pasta gigi.

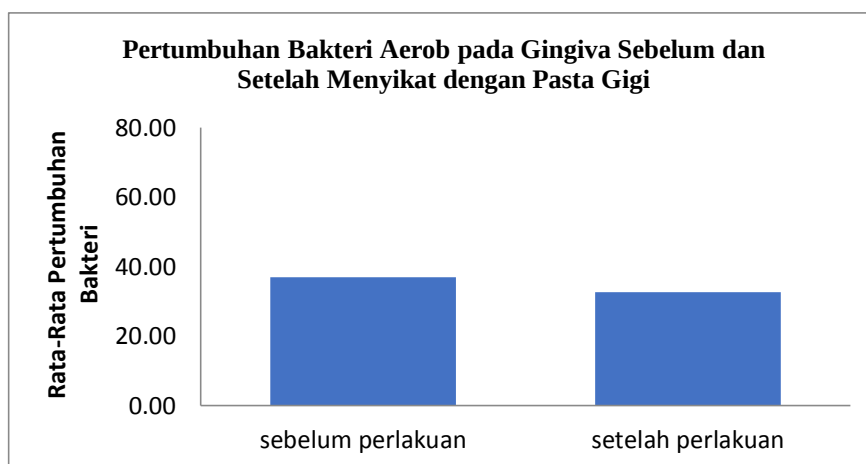
Berdasarkan hasil penelitian didapatkan pertumbuhan bakteri aerob gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada **Tabel 3** dan **Gambar 2.**

Tabel 3. Pertumbuhan Bakteri Aerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Penyikatan dengan Pasta Gigi	N	Min	Max	Rerata $\pm$ SD	<i>p value</i>
Sebelum Perlakuan	18	0.00	81.40	36.94 $\pm$ 26.37	0.617
Setelah Perlakuan	18	0.00	60.60	32.67 $\pm$ 17.84	

Keterangan: N: jumlah responden; Min: nilai minimal pertumbuhan bakteri aerob; Max: nilai maksimal pertumbuhan bakteri aerob; Rerata $\pm$ SD: rata-rata pertumbuhan bakteri aerob dan simpangan baku; *P value*: nilai probabilitas *paired t-test*.

Tabel 3. menunjukkan pertumbuhan bakteri aerob pada cawan petri dari sampel mukosa gingiva responden yang menyikat dengan menggunakan pasta gigi dan dihitung dengan colony counter. Data diuji dengan menggunakan paired sample t-test dan menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0.05$).



Gambar 2. Histogram Rerata Bakteri Aerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi Sebelum dan Setelah Perlakuan

Gambar 2. menunjukkan rerata pertumbuhan bakteri aerob pada gingiva responden sebelum menyikat dengan pasta gigi lebih besar dibanding setelah perlakuan. Data menunjukkan adanya penurunan bakteri aerob sebesar 12% pada gingiva responden setelah menyikat menggunakan pasta gigi.

Hasil Pemeriksaan Bakteri Aerob pada Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

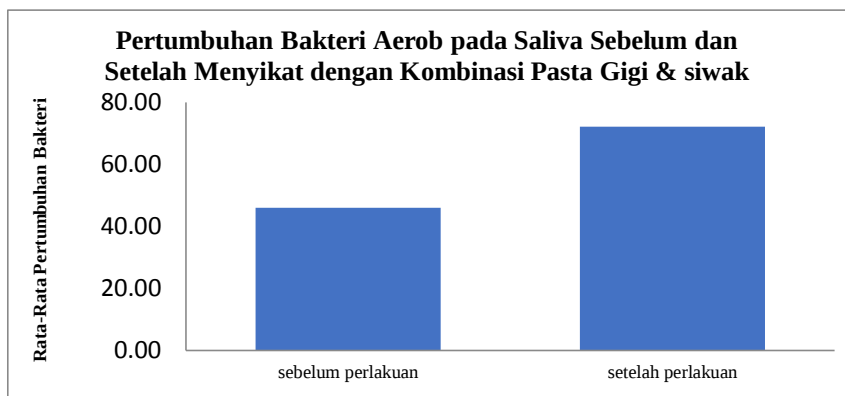
Pada penelitian ini didapatkan hasil jumlah koloni bakteri aerob pada saliva dan gingiva setelah menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak. Adanya peningkatan dan penurunan koloni bakteri aerob dapat dilihat dari nilai rerata sebelum dan setelah perlakuan. Nilai probabilitas (p value) yang didapatkan pada paired sample t-test menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan apabila < 0.05 . **Tabel 4.** dan **Gambar 3.** menunjukkan pertumbuhan bakteri aerob pada saliva responden yang menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak.

Tabel 4. Pertumbuhan Bakteri Aerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Penyikatan dengan Kombinasi	N	Min	Max	Rerata $\pm$ SD	p value
Sebelum Perlakuan	18	10.00	102.20	46.01 $\pm$ 26.71	0.085
Setelah Perlakuan	18	4.20	166.40	72.14 $\pm$ 53.70	

Keterangan: N: jumlah responden; Min: nilai minimal pertumbuhan bakteri aerob; Max: nilai maksimal pertumbuhan bakteri aerob; Rerata $\pm$ SD: rata-rata pertumbuhan bakteri aerob dan simpangan baku; P value: nilai probabilitas paired t-test.

Tabel 4. menunjukkan pertumbuhan bakteri aerob pada cawan petri dari sampel saliva responden yang menyikat dengan menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak yang dihitung dengan colony counter. Data diuji dengan menggunakan paired sample t-test dan menunjukkan adanya perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0.05$).



Gambar 3. Histogram Rerata Bakteri aerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak Sebelum dan Setelah Perlakuan

Gambar 3. menunjukkan rerata pertumbuhan bakteri aerob pada saliva responden yang menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak setelah perlakuan lebih besar dibanding sebelum perlakuan. Data menunjukkan adanya peningkatan bakteri aerob sebesar 57% pada gingiva responden setelah menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak.

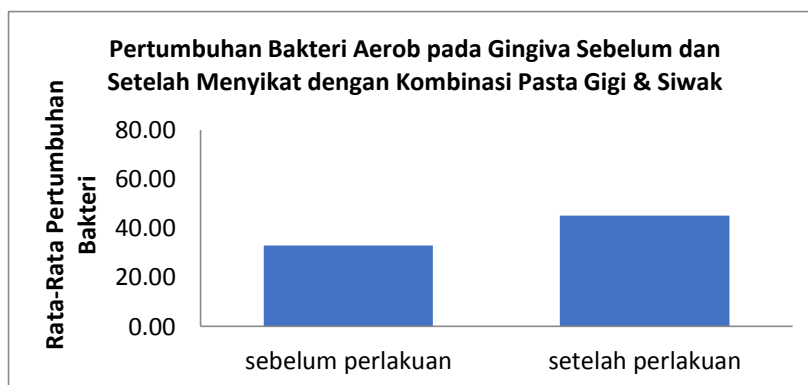
Dari hasil penelitian didapatkan pertumbuhan bakteri aerob gingiva responden yang menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari ditunjukkan pada **Tabel 5** dan **Gambar 4**.

Tabel 5. Pertumbuhan Bakteri Aerob pada Mukosa Gingiva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Penyikatan dengan Kombinasi	N	Min	Max	Rerata ± SD	p value
Sebelum Perlakuan	18	00.00	114.60	32.90± 40.64	0.289
Setelah Perlakuan	18	3.00	91.20	45.03± 25.74	

Keterangan: N: jumlah responden; Min: nilai minimal pertumbuhan bakteri aerob; Max: nilai maksimal pertumbuhan bakteri aerob; Rerata± SD: rata-rata pertumbuhan bakteri aerob dan simpangan baku; *P value*: nilai probabilitas *paired T-test*.

Tabel 5. menunjukkan pertumbuhan bakteri aerob pada cawan petri dari sampel sampel mukosa gingiva responden yang menyikat dengan menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak yang dihitung dengan *colony counter*. Data diuji dengan menggunakan *paired sample t-test* dan menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0.05$).



Gambar 4. Histogram Rerata Bakteri Aerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak Sebelum dan Setelah Perlakuan

Gambar 4. menunjukkan rerata pertumbuhan bakteri aerob pada gingiva responden yang menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak setelah perlakuan lebih besar dibanding sebelum perlakuan. Data menunjukkan adanya peningkatan bakteri aerob sebesar 37% pada gingiva responden setelah menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak.

PEMBAHASAN

Karakteristik Responden

Penelitian ini menggunakan 36 orang responden yang terdiri dari 18 pria dan 18 wanita. Bakteri aerob rongga mulut seperti *P. aeruginosa* tidak memiliki hubungan yang signifikan terhadap jenis kelamin sehingga jumlah responden pria dan wanita dibuat sama (Souto, Silva-boghossian, Paula, & Colombo, 2014). Faktor yang diduga mempengaruhi perkembangan bakteri aerob rongga mulut adalah durasi membersihkan gigi, makanan dan minuman yang dikonsumsi, lingkungan yang tidak higienis, penyakit oral dan penyakit sistemik yang diderita serta faktor lain seperti edukasi (Gao, Xu, Huang, Jiang, Gu, & Chen, 2018).

Responden merupakan santri Pondok Pesantren Ar-Razi untuk mempermudah peneliti dalam mengontrol kesetaraan jenis makanan yang dikonsumsi. Responden yang dipilih berusia 19-21 tahun karena pada usia diatas 16 tahun individu dapat menjaga kesehatan rongga mulut dengan baik. Penelitian ini menggunakan mahasiswa sebagai responden karena tingkat pendidikan yang tinggi berpengaruh terhadap perilaku dalam menjaga kesehatan rongga mulut (Rahtyanti, Hadnyanawati, & Wulandari, 2018). Responden tidak diperbolehkan mengonsumsi antibiotik karena akan mempengaruhi flora normal rongga mulut. Beberapa penelitian menunjukkan konsumsi antibiotik spektrum luas mampu menghilangkan sebagian besar flora endogen. Penggunaan obat-obatan seperti steroid tidak diperbolehkan disebabkan beberapa obat-obatan mampu menyebabkan penurunan aliran saliva sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri aerob rongga mulut meningkat. Perawatan gigi seperti *scaling* gigi atau mencabut gigi juga mampu mempengaruhi kolonisasi bakteri aerob rongga mulut (Patil, Rao, Sanketh, & Amrutha 2013). Responden tidak diperbolehkan mengonsumsi alkohol disebabkan karena alkohol mampu membantu peningkatan kolonisasi flora normal rongga mulut yang berpotensi menjadi patogen (Kakabadze, Paresishvili, Karalashvili, Chakhunashvili, & Kakabadze, 2020).

Perlakuan pada responden berupa menyikat gigi dengan pasta gigi yang dilakukan pada pagi setelah sarapan dan malam hari sebelum tidur. Hal ini dilakukan sesuai dengan pedoman Persatuan Dokter Gigi Indonesia (PDGI). Waktu dan frekuensi menggosok gigi yang tepat dapat mengurangi jumlah koloni bakteri aerob rongga mulut Efendi, Ameliawati, & Indriati, 2013). Pada penelitian ini proses penyikatan gigi menggunakan teknik bass. Menurut beberapa penelitian menyikat menggunakan teknik bass lebih efektif membersihkan plak dibanding teknik lainnya (Montho, 2015). Namun, teknik ini memiliki kelemahan apabila tidak dilakukan dengan benar. Salah satu efek sampingnya adalah mampu menyebabkan sensitivitas gingiva (Estini, 2017). Selain menyikat gigi, penelitian ini juga menggunakan siwak untuk proses pembersihan gigi. Menggosok dengan siwak dilakukan 5 kali dalam sehari yakni sebelum melaksanakan sholat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa siwak bersifat antibakteri dan mampu mengurangi plak. Pada penelitian sebelumnya didapatkan hasil bahwa setelah penyikatan kombinasi siwak dan pasta gigi selama tujuh hari dapat menurunkan jumlah plak. Sehingga pemberian perlakuan selama 10 hari pada penelitian ini diharapkan dapat menurunkan jumlah bakteri aerob rongga mulut (Halawany, 2012).

Sampel saliva digunakan pada penelitian ini disebabkan karena saliva mengandung komponen imunitas seperti *antibody secretory* IgG dan IgM, alpha dan beta defensin, cathelicidins dan staterin mampu menghambat kolonisasi bakteri aerob rongga mulut. Pada saliva, antibodi IgG dan IgM mampu menetralkan toksin dan mencegah proses adhesi fimbriae bakteri aerob

rongga mulut serta memicu aglutinasi bakteri aerob rongga mulut dan meningkatkan penghancuran bakteri (Fábián, Hermann, Fejérdy, & Fábián, 2012). Kandungan *alpha* dan *beta defensin* pada saliva mampu menghambat perkembangan pertumbuhan bakteri aerob rongga mulut (Dawes dkk., 2015). Protein cathelicidins memiliki efek antibakterial terhadap bakteri gram negatif, yakni dengan menghambat agregasi bakteri, merusak pembentukan kanal ion bakteri, merusak membrane bakteri serta menetralkan LPS bakteri gram negative (Fábián, Hermann, Fejérdy, & Fábián, 2012). Pemilihan sampel gingiva disebabkan karena pada gingiva komponen yang mampu mengontrol pertumbuhan flora normal rongga mulut. Pada gingiva terdapat *antimicrobial peptides* (AMP) yang berfungsi merusak membran bakteri dan berefek terhadap kematian bakteri (Mallapragada, Wadhwa, & Agrawal, 2017). Selain itu terdapat cairan sulkus gingiva (CSG) yang mampu mempengaruhi kolonisasi serta aktivitas patogenik dari bakteri aerob (Gupta, 2013).

Sampel saliva dan gingiva responden diambil sebelum dan setelah perlakuan dan ditumbuhkan pada media *Nutrient agar* (NA) dan selanjutnya ditumbuhkan pada lingkungan aerob. *Haemophilus spp.*, *P. aeruginosa* merupakan bakteri aerob yang mampu tumbuh besar pada media *Nutrient agar* (Wang, Liu, Pei, Du, Ouyang, & Huang, 2012). *Nutrient agar* (NA) mampu mengevaluasi koloni bakteri aerob namun tidak dapat mengevaluasi ekspresi gen dari bakteri tersebut. *Realtime Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk mengevaluasi ekspresi gen dan jumlah sel secara spesifik. Namun, media kultur *Nutrient agar* (NA) tidak dapat mengukur jumlah sel bakteri dan ekspresi gen bakteri sehingga diperlukan metode RT-PCR yang memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi untuk melihat ekspresi gen dan jumlah bakteri (Colombo, Barbosa, Higashi, Rodrigues, & Simionato, 2013).

Hasil Pemeriksaan Bakteri Aerob pada Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Pada sampel saliva responden didapatkan hasil bahwa menyikat menggunakan pasta gigi dapat menyebabkan adanya peningkatan sebesar 51% jumlah bakteri aerob secara tidak signifikan. Sedangkan pada sampel mukosa gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi didapatkan adanya penurunan 12% jumlah bakteri aerob namun tidak signifikan. Adanya peningkatan bakteri aerob pada sampel saliva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dapat terjadi karena pasta gigi mengandung beberapa bahan yang berpotensi membahayakan. Pasta gigi mengandung beberapa bahan aktif seperti kalsium bikarbonat, *Sodium Lauryl Sulfat* (SLS) dan fluoride yang mampu menurunkan kolonisasi bakteri aerob rongga mulut. Namun, beberapa bahan aktif seperti fluoride, SLS, dan triclosan dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan baik berupa reaksi lokal maupun sistemik. Reaksi lokal meliputi iritasi mukosa mulut dan deskuamasi (stomatitis, glositis, gingivitis, mukositis bukal), sedangkan reaksi sistemik mencakup alergi dan reaksi toksik akut atau kronis (Tadin, Gavic, Govic, Galic, Zorica, & Zeljezic, 2019).

Detergen yang paling umum digunakan dalam pasta gigi adalah senyawa anionik SLS. Pasta gigi yang mengandung SLS diketahui dapat menyebabkan terjadinya peradangan dan deskuamasi mukosa mulut. Telah diketahui bahwa sel epitel bertindak sebagai penghalang biokimia dan fisik yang melindungi integritas mukosa terhadap zat beracun. Sehingga adanya deskuamasi mukosa mulut dapat menurunkan perlindungan rongga mulut dari zat beracun baik yang dihasilkan oleh bakteri maupun dari penyebab lain. Komponen SLS yang digunakan melebihi batas yang dianjurkan mampu menyebabkan terjadinya perubahan rantai molekul protein pada saliva, iritasi pada rongga mulut, dan ulserasi yang parah. Batas pemakaian SLS pada pasta gigi sebesar 1-2%, sedangkan pemakaian rata-rata SLS pada pasta gigi pasaran sebesar 1,5-5%. SLS juga dapat menyebabkan penurunan kelarutan saliva sehingga menyebabkan mukosa rongga mulut bertambah kering (Nadhia, Sunariani, & Irmawati, 2015). Mukosa

rongga mulut yang kering dapat menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah bakteri karena terdapat penurunan saliva yang berperan dalam membatasi pertumbuhan bakteri (Tadin, Gavic, Govic, Galic, Zorica, & Zeljezic, 2019).

Pasta gigi berfluorida tidak hanya dapat meningkatkan konsentrasi fluorida dalam saliva dan plak gigi, tetapi juga dapat menembus sel epitel mukosa mulut dan dapat berfungsi sebagai reservoir fluorida jangka panjang. Konsentrasi fluoride dalam saliva dan plak dapat meningkat selama penggunaan pasta gigi berfluoride secara teratur. Sodium fluoride (NaF) terbukti bersifat sitotoksik dan menghasilkan respons inflamasi pada manusia. Pada penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa NaF dapat menginduksi apoptosis pada berbagai jenis sel secara in vitro manusia. Telah terbukti bahwa fluoride dapat diserap ke dalam mukosa mulut dan penggunaan produk kebersihan mulut yang mengandung 1500 ppm fluor, selama 4 bulan dapat meningkatkan levelnya di mukosa mulut. Penggunaan berulang-ulang dan meluasnya berbagai produk gigi dapat menyebabkan akumulasi fluoride di rongga mulut, di mana kelebihan fluoride dapat menyebabkan kerusakan DNA, merangsang apoptosis dan mempengaruhi siklus sel (Tadin, Gavic, Govic, Galic, Zorica, & Zeljezic, 2019).

Penurunan bakteri aerob pada sampel gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dapat disebabkan oleh karena reaksi dari bahan aktif pasta gigi yang mampu mengendalikan perkembangan bakteri aerob yang berpotensi sebagai patogen. Kalsium bikarbonat pada pasta gigi dapat menghambat pertumbuhan dan perlekatan bakteri aerob serta mampu menetralkan enzim urease yang dihasilkan dari metabolisme bakteri aerob (Anbu, Kang, Shin & So 2016). *Sodium Lauryl Sulfat* mampu mempertahankan pH saliva dengan menurunkan suasana asam yang dihasilkan oleh fermentasi bakteri aerob rongga mulut (Yustika, 2016). Fluoride memiliki kemampuan mengurangi produksi lipopolisakarida yang dimiliki oleh bakteri aerob (Aoun, Darwiche, Al Hayek & Doumit 2018). Namun, ketiga bahan aktif dalam pasta gigi tersebut tidak memiliki efek bakterisidal, yakni kemampuan untuk membunuh bakteri aerob rongga mulut.

Beberapa bahan aktif pasta gigi dapat menurunkan sistem pertahanan pada rongga mulut sehingga menyebabkan adanya peningkatan bakteri aerob pada saliva. Peningkatan bakteri aerob saliva pada penggunaan pasta gigi juga dapat disebabkan oleh karena faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri aerob yang dapat membantu bakteri untuk bertahan hidup dan berkembang biak dengan baik pada saliva. Penurunan bakteri aerob gingiva pada penggunaan pasta gigi dapat terjadi karena bahan aktif pasta gigi yang mampu mengendalikan perkembangan bakteri aerob. Data pada sampel saliva dan gingiva kelompok pasta gigi menunjukkan standar deviasi yang cukup tinggi, peneliti menduga pengawasan yang dilakukan secara tidak langsung terhadap proses penyikatan oleh responden dan media pertumbuhan dari bakteri aerob yang kurang tepat dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Hasil Pemeriksaan Bakteri Aerob pada Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Pada sampel saliva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak terdapat peningkatan 57% jumlah bakteri aerob secara tidak signifikan. Pada sampel mukosa gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak didapatkan adanya peningkatan 37% jumlah bakteri aerob namun tidak signifikan. Sehingga pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan jumlah bakteri pada saliva dan gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak. Adanya peningkatan bakteri aerob pada sampel saliva dan gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak dapat terjadi karena pasta gigi mengandung beberapa bahan yang berpotensi membahayakan seperti *Sodium Lauryl Sulfat* (SLS) dan fluoride. SLS pada pasta gigi diketahui dapat menyebabkan terjadinya deskuamasi mukosa mulut, sehingga menyebabkan penurunan perlindungan rongga mulut dari zat beracun

yang dihasilkan oleh bakteri maupun zat beracun dari penyebab lain (Tadin, Gavic, Govic, Galic, Zorica, & Zeljezic, 2019). Sehingga dalam hal ini mampu mendukung pertumbuhan bakteri aerob dan menyebabkan adanya peningkatan bakteri aerob pada saliva dan gingiva.

Pada penelitian sebelumnya didapatkan bahwa Sodium fluoride (NaF) dapat menurunkan viabilitas sel fibroblast gingiva manusia, serta dapat menimbulkan perubahan morfologi apoptosis mencakup kondensasi kromatin, dan fragmentasi DNA. Pada konsentrasi rendah, NaF dapat menginduksi motilitas sel, migrasi, invasi dan produksi matriks dalam sel epitel. Pada penelitian sebelumnya secara *in vivo*, didapatkan bahwa gel fluoride (NaF 2%) pada gigi terbukti menginduksi tingkat kerusakan DNA yang signifikan pada sel epitel mulut. Efek sitotoksik fluorida pada gingiva manusia dan fibroblas mukosa dan sel pulpa tergantung pada dosis dan waktu pemaparan. Sehingga dalam hal ini diketahui bahwa fluoride dapat menginduksi apoptosis pada fibroblas gingiva manusia dan dapat menurunkan imunitas rongga mulut (Tadin, Gavic, Govic, Galic, Zorica, & Zeljezic, 2019).

Salvadora persica (siwak) memiliki bahan aktif yang dapat menurunkan kolonisasi bakteri aerob rongga mulut. Komponen BITC pada siwak memiliki efek bakterisidal pada bakteri aerob rongga mulut namun, onset waktu nya tidak bertahan lama. Selain itu, komponen bahan aktif siwak memiliki kinerja yang kurang terhadap bakteri pada pasien dengan periodontitis (Al-Babtain, 2018). Penggunaan siwak yang terlalu sering dapat menyebabkan efek toksisitas terhadap tubuh ketika digunakan dalam durasi lama, beberapa penelitian menunjukkan efek beracun ekstrak air dan etanol siwak terhadap tikus pada dosis lebih dari 1200 mg/kg. Selain itu, penggunaan siwak cenderung hanya membersihkan bagian dari anterior gigi sedangkan bagian posterior terabaikan. Menurut peneliti hal ini menyebabkan akumulasi bakteri aerob rongga mulut tidak mengalami penurunan (Halawany, 2012).

Menurut penelitian Chaurasia, Patil, & Nagar (2012) masih banyak masyarakat yang salah dalam menggunakan siwak. Teknik bersiwak yang salah diduga mampu menyebabkan terjadinya resesi gingiva dan trauma pada permukaan rongga mulut. Resesi gingiva dan trauma akibat penggunaan siwak yang tidak benar akan menyebabkan infeksi dan peningkatan pengeluaran CSG apabila dilakukan dalam waktu yang lama. CSG yang memiliki protein menadione, estrogen dan hemin sebagai sumber nutrisi bakteri dapat meningkatkan akumulasi bakteri aerob rongga mulut (Chaurasia, Patil, & Nagar, 2012). Sebelum menggunakan siwak dianjurkan untuk memotong bagian ujung batang terlebih dahulu supaya mendapat efek maksimal dari bahan aktif siwak. Batang siwak pada bagian ujung yang jarang dipotong akan menurunkan efektifitas bahan aktif siwak (Albabtain, Azeem, Wondimu, Lindberg, Borg-karlson, Gustafsson, 2017).

Pada celah gingiva terdapat lingkungan mikro yang berbeda dari bagian lain pada rongga mulut, dengan nutrisi utama berasal dari CSG. CSG tidak mengandung gula namun mengandung protein sebagai sumber nutrisi utama mikrobiota. Sehingga lebih disukai mikroorganisme proteolitik. Selain itu, CSG juga mengandung sejumlah faktor pendukung pertumbuhan seperti vitamin (menadione), hormon (estrogen) dan protein / peptida serum tertentu (hemin) yang mendukung banyak bakteri gram negatif untuk beradaptasi dan tumbuh pada gingiva. *P. aeruginosa* yang menyerang gingiva akan menyebabkan pembengkakan pada gingiva. Pembengkakan ini akan meningkatkan aliran CSG. Hal ini menyebabkan peningkatan kolonisasi dan pertumbuhan bakteri aerob karena terdapat nutrisi yang cukup pada gingiva seiring dengan peningkatan CSG (Dahlen, Basic, & Bylund, 2019).

Beberapa bakteri aerob rongga mulut seperti *P. aeruginosa* memiliki enzim ekstraseluler dan toksin yang berfungsi untuk menghindari sistem pertahanan di rongga mulut. Enzim protease *P. aeruginosa* mampu memecah kolagen, IgG, IgA dan komplemen. Sehingga berpotensi menghindari sistem imunitas pada saliva. *P. aeruginosa* juga menghasilkan toksin seperti eksoenzim S dan eksotoksin A. eksoenzim S memiliki kemampuan untuk menghambat fagositosis, dan eksotoksin A dapat membantu kolonisasi bakteri (Brooks, Carroll, Butel & Mietzner,

2012). *M. salivarium* yang secara signifikan mengganggu fagositosis oleh makrofag dan mengganggu respon $\text{TNF-}\alpha$ terhadap lipoprotein. Lipoprotein membantu memfasilitasi *Mycoplasma* spp. untuk mempertahankan diri dan menghindari sistem kekebalan tubuh inang (Nolan dkk., 2016). Peningkatan jumlah bakteri aerob pada saliva juga dapat disebabkan oleh karena enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri aerob rongga mulut. Enzim protease bakteri aerob dapat mendegradasi molekul saliva yakni pelikel. Pelikel secara normal dapat mencegah perlekatan bakteri patogen terhadap mukosa. Namun, pelikel saliva yang terdegradasi akibat enzim protease bakteri aerob tersebut menyebabkan terbukanya reseptor adhesi untuk patogen, sehingga dapat meningkatkan adhesi dan kolonisasi dari bakteri patogen (Saputri, Zala, Arnanda, & Ardhani, 2010). Sehingga dalam hal ini adanya peningkatan bakteri aerob saliva dan gingiva pada penggunaan pasta gigi dan siwak dapat disebabkan oleh karena faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri aerob yang dapat membantu bakteri untuk bertahan hidup dan berkembang biak dengan baik pada saliva dan gingiva. Beberapa bahan aktif pasta gigi dan siwak yang telah dijelaskan sebelumnya juga dapat menurunkan sistem pertahanan pada rongga mulut sehingga menyebabkan adanya peningkatan bakteri aerob pada saliva dan gingiva. Data pada sampel saliva dan gingiva kelompok kombinasi pasta gigi dan siwak menunjukkan standar deviasi yang cukup tinggi, peneliti menduga pengawasan yang dilakukan secara tidak langsung terhadap proses penyikatan oleh responden dan media pertumbuhan dari bakteri aerob yang kurang tepat dapat mempengaruhi hasil penelitian. Peneliti juga menduga durasi menyikat dan penggunaan siwak yang tidak ditentukan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak tidak berpengaruh signifikan terhadap bakteri aerob saliva dan gingiva santri Pondok Pesantren Ar-Razi. Terdapat adanya peningkatan bakteri aerob saliva dan gingiva pada penggunaan kombinasi pasta gigi dan siwak dapat disebabkan oleh karena kemampuan bakteri aerob yang membantu untuk bertahan hidup dan berkembang biak dengan baik pada saliva dan gingiva. Beberapa bahan aktif pasta gigi dan siwak mampu mengendalikan perkembangan bakteri aerob. Namun beberapa bahan aktif pasta gigi juga dapat menurunkan sistem pertahanan pada rongga mulut sehingga menyebabkan adanya peningkatan bakteri aerob pada saliva dan gingiva setelah menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak.

DAFTAR RUJUKAN

- Abhary, M., & Al-Hazmi, A. (2016). antibacterial activity of miswak (*salvadora persica*) extracts on oral hygiene, *Journal of Taibah University for Science*, 10(4), 513–520.
- Al-Babtain, R.A. (2018). *Periodontal implication of salvadora persica l.*thesis, Karolinska institut. Diakses dari https://openarchive.ki.se/xmlui/bitstream/handle/10616/46507/Thesis_Reham_Albabtain.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Albabtain, R., Azeem, M., Wondimu, Z., Lindberg, T., Borg-karlson, A.K., and Gustafsson, A. (2017). Investigations of a Possible Chemical Effect of *Salvadora persica* Chewing Sticks. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(1), 9–12. <https://doi.org/10.1155/2017/2576548>
- Anbu, P., Kang, C. H., Shin, Y. J., & So, J. S. (2016). Formationsof calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *SpringerPlus*, 1–26. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1869-2>

- Aoun, A., Darwiche, F., Al Hayek, S., & Doumit, J. (2018). The fluoride debate: The pros and cons of fluoridation. *Preventive Nutrition and Food Science*, 23(3), 171–180. <https://doi.org/10.3746/pnf.2018.23.3.171>
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A. & Mietzner, T.A. (2012). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology* (25th Ed.). Terjemahan Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Chaurasia, A., Patil, R., & Nagar, A. (2012). Miswak in oral cavity an update. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 3(2), 98–101. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2012.09.004>
- Chevalier, S., Bouffartigues, E., Bodilis, J., Maillot, O., Lesouhaitier, O., Feuilleley, M.G.J., Orange, N., Dufour, A., & Cornelis, P. (2017). Structure, Function and Regulation of *Pseudomonas aeruginosa* Porins, *FEMS Microbiology Reviews*, 41(5), 698–727. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux020>
- Colombo, A. V, Barbosa, G. M., Higashi, D., Rodrigues, P. H., & Simionato, M. R. L. (2013). Quantitative detection of staphylococcus aureus, enterococcus faecalis and pseudomonas aeruginosa in human oral epithelial cells from subjects with periodontitis and periodontal health, 6(2), 1–27. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.055830-0>
- Dahlen, G., Basic, A., & Bylund, J. (2019). Importance of virulence factors for the persistence of oral bacteria in the inflamed gingival crevice and in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of Clinical Medicine*, 8(9), 1–5. <https://doi.org/10.3390/jcm8091339>
- Dawes, C., Pedersen, A.M.L., Villa, A., Ekstro, J., Proctor, G.B., Sia, Y.W., Joshi, R.K., Jensen, S.B., Kerr, A.R., & Wolff, A. (2015). The functions of human saliva : A review sponsored by the world workshop on oral medicine VI. *Archives of Oral Biology*, 60(6), 863–874.
- Difco & BBL team. (2009). *Manual of Microbial Cell Culture* (2nd Ed). Becton, Dickinson and Company. Maryland. P. 404–405.
- Efendi Rahayu, Ameliawati, & Indriati, G. (2013). Hubungan antara cara menggosok gigi terhadap kejadian karies gigi pada anak Usia sekolah. *Jom Unri*, 5(1), 1–9.
- Estini, S. (2017). Pengaruh metode simulasi menggosok gigi menggunakan teknik bass terhadap keterampilan dan kebersihan gigi dan mulut, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 1(1), 66. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Fábián, T. K., Hermann, P., Beck, A., Fejérdy, P. & Fábián, G. (2012). Salivary defense proteins : their network and role in innate and acquired oral immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 4295–4320.
- Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., & Chen, F. (2018). Oral microbiomes : more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein & Cell*, 9(5), 488–500. <https://doi.org/10.1007/s13238-018-0548-1>
- Gupta G. (2013). Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- II: Inflammatory mediators, host-response modifiers and chair side diagnostic aids. *Journal of medicine and life*, 6(1), 7–13
- Halawany, H.S. (2012). A review on miswak (salvadora persica) and Its effect on various

aspects of oral health, *The Saudi Dental Journal*, 24(2), 63-69.
<https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2011.12.004>

Kakabadze, M. Z., Paresishvili, T., Karalashvili, L., Chakhunashvili, D., & Kakabadze, Z. (2020). Oral microbiota and oral cancer: Review, *Oncology Reviews*, 14(2).
<https://doi.org/10.4081/oncol.2020.476>

Kusumasari, N. (2012). Pengaruh larutan kumur ekstra siwak (*Salvadora persica*) terhadap PH saliva, *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 1(1), 50.

Mallapragada, S., Wadhwa, A., & Agrawal, P. (2017). Antimicrobial peptides: The miraculous biological molecules. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 21(6), 434–438.
https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_325_16

Montho, R. (2015). *Perbedaan pengurangan plak menggunakan metode menyikat gigi horizontal dan vertikal pada anak sd kristen rantepao toraja utara*. Skripsi. Fakultas Kedokteran gigi Universitas Hasanuddin.

Nadhia, B.R., Sunariani, J., & Irmawati, A. (2015). Penurunan sensitivitas rasa manis akibat pemakaian pasta gigi yang mengandung Sodium Lauryl Sulphate 5% (Decreasing of sweet taste sensitivity caused by the usages of Sodium Lauryl Sulphate 5% in toothpaste). *Jurnal PDGI*, 58(2). Retrieved from <http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jpdgi/article/view/84>.

Nicolson, G.L., (2019). Pathogenic Mycoplasma Infections in Chronic Illnesses: General Considerations in Selecting Conventional and Integrative Treatments, *International Journal of Clinical Medicine*. 10(10), 477–522. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2019.1010041>

Nolan, T. J., Gadsby, N. J., Hellyer, T. P., Templeton, K. E., McMullan, R., McKenna, J. P., & Simpson, A. J. (2016). Low-pathogenicity mycoplasma spp . alter human monocyte and macrophage function and are highly prevalent among patients with ventilator-acquired pneumonia. *Thorax*, 71 (7), 594–600. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-208050>

Patil, S., Rao, R. S., Sanketh, D. S., & Amrutha, N. (2013). Microbial flora in oral diseases. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 14(6), 1202–1208. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1477>

Rahtyanti, G. C. S., Hadnyanawati, H., & Wulandari, E. (2018). Hubungan pengetahuan kesehatan gigi dan mulut dengan karies gigi pada mahasiswa baru fakultas kedokteran gigi universitas jember tahun akademik 2016/2017 (Correlation of oral health knowledge with dental caries in first grade dentistry students of jember. *Pustaka Kesehatan*, 6(1), 167.
<https://doi.org/10.19184/pk.v6i1.7153>

Saha, U. S., Misra, R., Tiwari, D., & Prasad, K. N. (2016). A cost-effective aerobic culture method & its comparison with a standard method. *Indian Journal of Medical Research (IJMR)*, 144(4), 611–613. <https://doi.org/10.4102/0971-5916.200881>

Saputri, T., Zala, H., Arnanda, B., & Ardhani, R. (2010). Saliva as an early detection tool for chronic obstructive pulmonary disease risk in patients with periodontitis. *Journal of Dentistry Indonesia*, 17(3), 87–92.

Sawarkar, S. P., Anisha, D., & Fernandes, T. (2020). *Salvadora persica* l. (miswak): An

effective folklore toothbrush. *Natural Oral Care in Dental Therapy*. P.285–296. <https://doi.org/10.1002/9781119618973.ch18>

Souder, E., & Vodzak, J. (2011). *Other haemophilus species and aggregatibacter species* (5th Ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00173-0>

Souto, R., Silva-boghossian, C. M., Paula, A., & Colombo, V. (2014). Prevalence of pseudomonas aeruginosa and acinetobacter spp. in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Brazilian journal of microbiology*, 45(2), 495–501. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014000200017>

Sukma, C. E., Elyani, H., & Yahya, A. (2020). Pengaruh menyikat gigi dengan kombinasi pasta gigi dan siwak (salvadora persica) terhadap jumlah koloni bakteri anaerob pada saliva dan mukosa ginggiva santri ar-razi. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang*, 8(1), 1-8.

Tadin, A., Gavic, L., Govic, T., Galic, N., Zorica, V. N., & Zeljezic, D. (2019). In vivo evaluation of fluoride and sodium lauryl sulphate in toothpaste on buccal epithelial cells toxicity. *Acta Odontologica Scandinavica*, 77(5), 386-393. <https://doi.org/10.1080/00016357.2019.1577988>

Wang, Y., Liu, S., Pei, D., Du, X., Ouyang, X., & Huang, C. (2012). Effect of an 8.0% arginine and calcium carbonate in-office desensitizing paste on the microtensile bond strength of self-etching dental adhesives to human dentin. *American Journal of Dentistry*, 25(5), 281-286.

Yustika, A.D. (2016). *Studi perbandingan penggunaan pasta gigi detergen dan non detergen terhadap derajat keasaman (pH) saliva anak usia 10-12 tahun di madrasah ibtidaiyah al ma'arif kebumen kecamatan banyubiru*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.