

**DENTIN**  
**JURNAL KEDOKTERAN GIGI**  
**Vol V. No 2. Agustus 2021**

**UJI KITOSAN SISIK IKAN HARUAN (*Channa striata*) TERHADAP  
 AKTIVITAS ENZIM GLUKOSILTRANSFERASE *Streptococcus mutans***

**Moch. Andhika Firdausi Rachfa<sup>1)</sup>, Deby Kania Tri Putri<sup>2)</sup>, Renie Kumala Dewi<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

<sup>2)</sup>Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

<sup>3)</sup>Departemen Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

**ABSTRACT**

**Background:** *Streptococcus mutans* is a bacterium that acts as the main agent for dental caries. These bacteria have glucosyltransferase (GTF) enzyme which can catalyze sucrose into adhesive glucans, this pathogen nature also plays a role in biofilm structures. Haruan fish (*Channa striata*) of chitosan known as a natural ingredient which has antibacterial properties, the content of amine groups (NH<sub>2</sub>) in chitosan can inhibit the activity of the GTF enzyme from *Streptococcus mutans*. **Purpose:** To explain the effect of chitosan from haruan fish scales on the activity of the enzyme Glucosyltransferase *Streptococcus mutans*. **Methods:** This research was a true experimental study with a post-test only design with control group design using haruan fish scales chitosan with concentration of 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4% and measured using High Performance Liquid Chromatography HPLC to see activity of the glucosyltransferase enzyme. **Results:** This study showed that 1.5% concentration of haruan fish scales chitosan was able to inhibit the enzyme activity with a value of 82.689 unit. **Conclusion:** Haruan fish scales chitosan with concentration 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4% has the same ability as 0.2% Chlorhexidine gluconate in inhibiting the activity of the GTF *S. mutans* enzyme.

**Key words:** Chitosan, glucosyltransferase enzyme, HPLC, *Streptococcus mutans*.

**ABSTRAK**

**Latar Belakang:** *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang berperan sebagai agen utama terjadinya karies gigi. Bakteri ini memiliki enzim glukosiltransferase (GTF) yang dapat mengkatalis sukrosa menjadi glukukan yang bersifat adhesive sehingga meningkatkan perlekatan bakteri, sifat patogen ini juga berperan dalam pembentukan struktur biofilm. Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) diketahui sebagai bahan alami yang memiliki sifat antibakteri. Kandungan gugus amina (NH<sub>2</sub>) dalam kitosan ikan haruan dapat menghambat aktivitas enzim GTF *Streptococcus mutans*. **Tujuan:** Menjelaskan pengaruh kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) Terhadap aktivitas enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. **Metode:** penelitian true experimental dengan rancangan post test only with control group design menggunakan kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5%, 4% dan diukur menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk melihat aktivitas enzim glukosiltransferase. **Hasil:** Hasil dari pengujian menunjukkan bahwa kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 1,5% sudah mampu menghambat aktivitas enzim dengan nilai 82,689unit **Kesimpulan:** Kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5%, 4% memiliki kemampuan yang setara dengan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dalam menghambat aktivitas enzim GTF *S. mutans*.

**Kata kunci :** Enzim Glukosiltransferase, HPLC, Kitosan, *Streptococcus mutans*.

Korespondensi: Moch. Andhika Firdausi Rachfa, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jalan Veteran No. 128B, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, email: [andhikarachfa@gmail.com](mailto:andhikarachfa@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Kalimantan Selatan merupakan salah satu provinsi dengan tingkat karies yang tinggi yaitu 50,7%.<sup>1,2</sup> Karies merupakan penyakit pada jaringan keras gigi yang disebabkan adanya aktivitas fermentasi oleh bakteri. Salah satu faktor yang memegang peranan penting adalah mikroorganisme dalam plak gigi. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan jenis yang paling banyak dijumpai pada awal terbentuknya plak gigi.<sup>3</sup>

*S. mutans* adalah bakteri kariogenik yang memiliki peran penting dalam patogenesis karies gigi. Proses karies diawali melekatnya bakteri *S. mutans* pada permukaan gigi karena adanya peranan enzim glukosiltransferase (GTF).<sup>4</sup> GTF mampu berinteraksi dengan komponen saliva seperti amilase, sehingga dapat menghambat aktivitas dan adsorpsi hidroksiapatit terhadap proses remineralisasi pada gigi.<sup>5</sup> GTF juga mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler sukrosa untuk menghasilkan glukon yang bersifat lengket sehingga membantu adhesif dan akumulasi bakteri pada permukaan gigi.<sup>6</sup>

Upaya pencegahan karies saat ini dilakukan dengan cara mekanik dan kimiawi seperti menyikat gigi, *flossing*, maupun dengan pemberian obat kumur. Salah satu obat kumur yang sering digunakan adalah *Chlorhexidine gluconate* 0,2%.<sup>7</sup> *Chlorhexidine gluconate* tidak bersifat toksik, namun dapat menyebabkan perubahan sensasi sementara dan meninggalkan noda kecoklatan pada gigi dan lidah yang sulit untuk dibersihkan, sehingga diperlukan obat kumur berbahan dasar alami yang memiliki khasiat antibakteri dengan efek samping yang minimal.<sup>7</sup>

Bahan alami yang dapat dijadikan sebagai alternatif bahan antibakteri pencegah karies adalah kitosan yang berasal dari sisik ikan haruan (*Channa striata*). Kitosan mempunyai gugus fungsional amina (-NH<sub>2</sub>) bermuatan positif kuat yang dapat menarik molekul asam amino bermuatan negatif membentuk protein pada bakteri sehingga menyebabkan denaturasi protein pada dinding sel bakteri dan menyebabkan kematian sel bakteri.<sup>10</sup>

Hasil penelitian oleh Handi (2010) pasta gigi dari kitosan blangkas dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dari variasi konsentrasi 0,5%, 1,5%, dan 2,5%. Daya antibakteri pada kelompok pasta gigi kitosan blangkas yaitu pada konsentrasi 2,5% sebesar 3,46 cm.<sup>11</sup> Berdasarkan uraian diatas, diketahui bahwa senyawa kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap gram positif, tetapi belum diketahui efeknya terhadap enzim glukosiltransferase pada bakteri *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi dari senyawa kitosan sisik ikan haruan terhadap

enzim glukosiltransferase bakteri *Streptococcus mutans*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dan laboratorium layanan pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Penelitian dimulai setelah memperoleh etika penelitian No.006/KEPKG-FKGULM/EC/I/2020 yang dikeluarkan oleh komite etik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat.

Penelitian ini merupakan *true experimental* dengan rancangan penelitian *post test only with control group design*. Sampel pada penelitian ini terdiri dari kelompok perlakuan kitosan sisik ikan haruan dengan konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5%, 4% dan *Chlorheksidin glukonat* 0,2% sebagai kontrol positif.

Prosedur yang pertama adalah pengumpulan sisik ikan haruan dari industri pengeajin kerupuk ikan haruan di kuin Kalimantan Selatan. Sisik yang terkumpul dicuci dan dikeringkan dengan oven untuk kemudian dihaluskan dengan belender hingga menjadi bubuk.<sup>12,13,14</sup>

**Deproteinasi.** Bubuk sisik selanjutnya dideproteinasi untuk menghilangkan kandungan protein. Sisik direndam dengan larutan NaOH 4% dan direbus selama 60 menit. Selanjutnya, pH dinetralkan dan dikeringkan kembali.<sup>12,13,14</sup>

**Demineralisasi.** Proses demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan kandungan mineral yang ada. Bubuk sisik direndam dalam larutan HCL 1% dengan perbandingan 1:4 selama 24 jam. Kemudian, sisik kembali dinetralkan dan dikeringkan.<sup>12,13,14</sup>

**Deasetilasi.** Tahap selanjutnya yaitu deasetilasi menggunakan larutan NaOH 50%. Bubuk ikan direbus dengan NaOH 50% selama 2 jam suhu 80°. Setelah direbus pH kembali dinetralkan dan dikeringkan dengan oven.<sup>12,13,14</sup>

**Persiapan Bakteri.** Bakteri *Streptococcus mutans* yang diambil dari isolat murni di Laboratorium Mikrobiologi *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam 10 ml BHI cair dan diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C ke dalam inkubator anaerob. Sesudah kultivasi media kultur dishaker 150 rpm dan disentrifuge 1500 rpm selama 30 menit untuk mendapatkan crude enzim.<sup>6</sup>

**Persiapan Kelompok Perlakuan.** Campurkan 0,9 ml sukrosa 0,1% dalam pH 7 + 0,1 ml larutan enzim GTF + KSIH sebanyak 0,025 ml + buffer fosfat sampai volume 2 ml. Semua kelompok perlakuan dan kontrol diinkubasi selama 2 jam, kemudian disaring dengan kertas saring sampai tidak ada endapan yang terbentuk. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan menggunakan instrument *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yaitu dengan menyuntikkan 5 µl larutan sampel dan larutan standar untuk kemudian disamakan waktu retensinya. Untuk menghitung kadar fruktosa menggunakan rumus pembacaan luas area fruktosa pada larutan standar fruktosa. Satu unit aktivitas enzim GTF didefinisikan sebagai 1 µmol fruktosa/ml.<sup>6</sup>

$$\text{Konsentrasi (\%)} = \frac{\{(AC/AS) \times (VIS/VIC) \times FP\}}{KS} \times 100\%$$

### HASIL PENELITIAN

Hasil uji menunjukkan larutan standar fruktosa 100 ppm pada HPLC menunjukkan waktu retensi pada perkiraan menit ke 8.436 sehingga luas area fruktosa sampel yang dihasilkan dapat disamakan dari waktu retensi yang tertera pada hasil kromatogram larutan standar. Hasil uji aktivitas enzim GTF selanjutnya dilakukan uji analisis data menggunakan *IBM SPSS Statistics 26 for Windows* sehingga didapatkan hasil yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata uji aktivitas enzim glukosiltransferase *S. mutans* dengan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*).

Perlakuan	N	Mean	Std.Deviasi
KSIH 1,5%	4	82,689	13,670
KSIH 2,5%	4	76,709	12,479
KSIH 3,5%	4	83,661	17,675
KSIH 4%	4	85,368	17,126
CHX 0,2%	4	72,185	12,280
As. Asetat 1%	4	110,598	17,026

Keterangan

KSIH : Kitosan Sisik Ikan Haruan  
 CHX 0,2% : *Chlorhexidine gluconate* 0,2%  
 As. Asetat 1% : Asam Asetat 1%

Data yang sudah didapat dilakukan uji normalitas *Shapiro-wilk* dengan syarat data  $p > 0,05$ , menunjukkan bahwa nilai sig. dari setiap perlakuan lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi normal. Data kemudian dilakukan uji homogenitas *Levene's Test* diperoleh nilai signifikansi 0,896 yang artinya nilai  $p > 0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa varian antar kelompok sama.

Hasil dari penelitian kemudian diuji menggunakan uji *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji *One Way Anova* didapatkan nilai  $p = 0,035$  artinya  $p < 0,05$  yang

menunjukkan bahwa adanya perlakuan yang memberikan pengaruh yang berbeda, maka dapat dilanjutkan dengan uji *PostHoc Bonferroni* untuk mengetahui kelompok yang memberikan perbedaan signifikan.

Tabel 2. Uji *Posthoc* kitosan sisik ikan haruan, *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dan asam asetat 1% terhadap aktivitas enzim glukosiltransferase *Streptococcus mutans*.

Perlakuan	CHX 0,2%	As. Asetat 1%	KSIH 1,5%	KSIH 2,5%	KSIH 3,5%	KSIH 4%
CHX 0,2%		0,033*	1,000	1,000	1,000	1,000
As. Asetat 1%			0,270*	0,008*	0,033*	0,046*
KSIH 1,5%				1,000	1,000	1,000
KSIH 2,5%					1,000	1,000
KSIH 3,5%						1,000
KSIH 4%						

\*Signifikansi ( $p < 0,05$ )

Tabel 2. Menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ( $P < 0,05$ ), antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif. Perbedaan yang bermakna juga di dapatkan dari kelompok kontrol negatif dengan kelompok KSIH konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5% dan 4%. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok KSIH konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5%, 4% dengan *Chlorhexidine gluconate*. Hal ini membuktikan bahwa kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5%, 4% mampu setara dengan *Chlorhexidine gluconate* dalam menghambat aktivitas enzim GTF *S. mutans*.

### PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) yang paling besar dalam menghambat aktivitas enzim GTF *S. mutans* adalah konsentrasi 2,5%. Hal ini dapat dilihat pada nilai rerata aktivitas enzim GTF *S. mutans* yang terbentuk pada konsentrasi 2,5% lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yaitu sebesar 76,709 unit.

Mekanisme kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dalam menghambat produksi enzim GTF *S. mutans* dapat dibagi menjadi tiga mekanisme yang berbeda. Mekanisme pertama disebabkan oleh gugus karboksilat pada membrane sel bakteri ( $\text{OH}^-$ ) yang diikat oleh gugus amino  $\text{NH}_2^+$  kitosan sehingga mengakibatkan permeabilitas membrane sel bakteri menjadi tidak stabil dan meningkat.<sup>10</sup> Peningkatan permeabilitas

pada membrane sel ini juga akan memicu terjadinya penurunan pH dan sensitisasi pada bakteri. Kondisi pH yang rendah merupakan salah satu inhibitor aktivitas katalis enzim.<sup>15,16</sup>

Mekanisme yang kedua yaitu dengan menginaktivasi protein enzim pada membran sel bakteri. Mekanisme ini disebabkan karena kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) memiliki gugus amino bebas yang akan terprotonasi membentuk polikationik dalam suasana asam. Suasana asam tersebut membuat polisakarida kitosan menjadi bermuatan positif dan akan berikatan dengan logam-logam esensial.<sup>17</sup> Hasil ikatan ini akan mengganggu peptidoglikan pada dinding sel bakteri yang mengakibatkan bakteri tidak mempunyai selubung yang kokoh. Hal ini memudahkan gugus amina dari aminopolisakarida kitosan dapat menarik molekul negatif protein enzim pada membrane sel dan mendenaturasi enzim yang sebagian besar adalah protein.<sup>18</sup>

Mekanisme yang ketiga dapat dijelaskan bahwa bakteri *S. mutans* merupakan bakteri yang memiliki struktur dinding mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar, sehingga kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan sifat kationiknya dapat berpenetrasi ke dalam nukleus bakteri. Selanjutnya  $\text{NH}_2^+$  akan masuk dan berikatan dengan DNA untuk kemudian menghambat proses transkripsi DNA dan sintesis RNA. Terganggunya transkripsi DNA ini akan mengakibatkan Ribosomal RNA (*rRNA*) dan Transfer RNA (*tRNA*) yang berfungsi untuk perangkaian asam amino untuk memproduksi protein akan terhambat sehingga produksi enzim akan menurun.<sup>17,19</sup>

Penelitian ini menunjukkan bahwa *Chlorhexidine gluconate* 0,2% memiliki kemampuan menurunkan aktivitas enzim paling besar dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Mekanisme *Chlorhexidine* dalam menghambat enzim GTF *S. mutans* yaitu dengan menghambat enzim pada membran dan mengacaukan interaksi antara lipid dan protein dalam membran. Hal ini sejalan dengan penelitian Kidd dan Bechal, (2012) yang menyebutkan bahwa *Chlorhexidine* memiliki 2 ion positif yang disebut dengan dikationik. Ion positif ini memiliki ikatan yang lebih kuat dari pada ion positif lain dan akan berikatan dengan ion negatif yang terdapat pada dinding sel bakteri seperti polisakarida ekstraseluler, pelikel, plak, serta mukosa rongga mulut.<sup>19</sup>

Pada penelitian ini DD kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) yang digunakan sebesar 85,25%.<sup>12</sup> Kitosan sisik ikan haruan (*Channa*

*stroata*) pada penelitian ini memiliki sifat khusus dalam hal biokompatibilitas, biodegradasi dan bersifat non alergenik. Hal ini sesuai dengan penelitian milik Putri dkk, (2020) yang membuktikan bahwa kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) memiliki kadar protein yang rendah sebesar 0,17%. Kadar protein rendah inilah yang membuktikan bahwa kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) menjadi suatu material yang bersifat non alergenik.<sup>12</sup> Suriya dkk, (2018) juga menyatakan bahwa sifat biokompatibilitas kitosan yang baik diperoleh dari kemiripan strukturnya dengan glikosaminoglikan dari matriks ekstraseluler manusia sedangkan sifat biodegradasi dari kitosan disebabkan karena kitosan dapat terurai secara hayati.<sup>21</sup>

Penelitian ini membuktikan bahwa kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) berpotensi untuk digunakan sebagai alternatif obat kumur berbahan alami, karena kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) mengandung senyawa antibakteri yang mampu menghambat aktivitas enzim GTF pada *S. mutans*. Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) juga terbukti lebih biokompatibel terhadap jaringan mukosa, sehingga dapat membantu meningkatkan kualitas kesehatan gigi dan mulut pasien.

Berdasarkan penelitian dan uji statistik yang telah dilakukan, peneliti menarik kesimpulan bahwa kelompok kitosan sisik ikan haruan dengan konsentrasi 1,5%, 2,5%, 3,5% dan 4% memiliki kemampuan setara dengan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dalam menghambat aktivitas enzim GTF *S. mutans*.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2018)*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2018. p. 94.
2. Rebecca AN, Pangemanan DHC, Gunawan PN. Pengaruh Tingkat Sosial Ekonomi Orang Tua Terhadap Karies Anak di TK Hang Tuah Bitung. *Jurnal e-gigi*. 2015; 3(2): 542-548.
3. Fatmawati DWA. Hubungan Biofilm *Streptococcus mutans* terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. *J.K.G Unej*. 2011; 8(1): 127-130.
4. Isnarianti R, Wahyudi IA, Puspita RM. *Muntingia calabura* L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dentistry Indonesia*. 2013; 20(3): 59-63.
5. Krzysciak W, Jurczak A, Koscielniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilm. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014; 33(4): 499-515.

6. Adindaputri UZ, Purwanti N, Wahyudi IA. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Maj. Ked. Gigi*. 2013; 20 (2): 126-131.
7. Ristianti N, Jaka KW, Marsono. Perbedaan Efektifitas Obat Kumur Herbal dan NonHerbal Terhadap Akumulasi Plak di Dalam Rongga Mulut. *Medali Jurnal*. 2015; 2(1): 31-36.
8. Sari DN, Cholil, Bayu IS. Perbandingan Efektifitas Obat Kumur Bebas Alkohol yang Mengandung Cetylpyridinium Chloride dengan Chlorhexidine Terhadap Penurunan Plak. *Dentino (Jur. Ked. Gigi)*. 2014; 2(2): 179-183.
9. Agustin R, Dewi N, Rahardja SD. Efektivitas Ekstrak Ikan Haruan (*Channa striata*) Dan Ibuprofen Terhadap Jumlah Sel Neutrofil Pada Proses Penyembuhan Luka Studi in Vivo pada Mukosa Bukal Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar. *Dentino Jur. Ked.Gigi*. 2016; 1(1): 68 – 74.
10. Widyaningrum DRW, Deby KTP, Irham T. Antibacterial Activities of Chitosan in Haruan Fish Scales (*Channa striata*) to the Growth of *Staphylococcus aureus*. *Dentino Jurnal kedokteran gigi*. 2019; 4(2): 162-167.
11. Handi J, Trimurni A. Pengaruh Pasta Gigi Mengandung Kitosan Blangkas Bermolekul Tinggi Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. *Dentistry E-Journal*. 2010; 1(1): 1-7.
12. Putri DKT dkk. Synthesis and Characteristics of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) Fish Scales. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2020; 11(4): 15 -20.
13. Gokulalakshmi E, Ramalingam K, Umasankari U, Vanitha MC. Extraction and Characterization of Chitosan Obtained from Scales of *Clarias gariepinus* (Catfish). *Biotechnol J Int*. 2017; 18(4): 1-8.
14. Tammi T, Suanti NM, Manurung M. Variasi Kitosan dan PH Terhadap Kemampuan Kitosan Dalam Mengadsorpsi Metilen Biru. *Jurnal Kimia*. 2013; 7(1): 11-18.
15. Jeon JG, Pandit S, Xiao J, Gregoire S, Falsetta ML, Klein MI, Koo H. Influences of trans-trans farnesol, a membrane-targeting sesquiterpenoid, on *Streptococcus mutans* physiology and survival within mixed-species oral biofilm. *Int J Oral Sci*. 2011; 3(2): 98-106.
16. Ismail AI, Tellez M, Pitts NB. *Caries management pathways preserve dental tissues and promote oral health in: Community Dentistry and Oral Epidemiology*. Blackwell Publishing Ltd, 2013; 41(1) 12-40.
17. Rahma Dania AJ, Putri DKT, Taufiqurrahman I. Antibacterial Activity of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) Fish Scales Against the Growth of *Porphyromonas Gingivalis*. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2020; 5(1): 53-57.
18. Fejerskov O, Kidd. *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management 3rd edition*. Australia: Blackwell munksgaard. 2008; 5-6.
19. Kidd EAM, Bechal SJ. *Dasar-dasar Karies Penyakit dan Penanggulangan*. Edisi 1. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 2012; 46-47.
20. Sinaredi BR, Seno P, Teguh BW. Daya Antibakteri Obat Kumur Chlorhexidine, Pevidone Iodine, Fluoride Suplementasi Zinc Terhadap, *Streptococcus mutans* dan *porphyromonas gingivalis*. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*. 2014; 47(4): 211-214.
21. Suriija I, Gunawan HA, Amir LR. Effect of Chitosan on the Enamel Demineralization Process in Vitro: an Enamel Solubility Test. *J. Physics*. 2018;1073 (5).