



KPPKG2009

15th Scientific Meeting & Refresher Course in Dentistry
Faculty of Dentistry Universitas Indonesia

Proceedings

of The 15th Scientific Meeting
& Refresher Course in Dentistry

UJI IN VITRO POTENSI ANTI BAKTERI KARIOGENIK STREPTOCOCCUS MUTANS DARI BERBAGAI MINUMAN YOGHURT

Sinta Deviyanti¹, Silva Abraham², Ranty Maytreya Zen¹

¹Bagian Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Prof.Dr.Moestopo(B)

²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Prof.Dr.Moestopo (B)

Abstract

Nowadays, probiotic is one of the several method to control or prevent caries associated with *Streptococcus mutans*. This study aimed at examining cariogenic antibacterial potential of the several commercially yoghurt against *Streptococcus mutans* and knowing the potential difference between each of them at the in vitro condition. Yoghurt in different types of probiotic (group A contains *Lactobacillus casei* strain Shirota; group B contains *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*; group C,D,E contains *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* with different flavour e.a. lychee, strawberry, mango and natural food colouring) trickle to sterilized filterpaper discs. This paper disc were placed in Brain Heart Infusion Agar plates inoculated with *S.mutans*, incubated for 24 hours at 37⁰C. The inhibitory zone was recorded. Antibiotics erythromycin and amoxicillin as positive control. One way Anova showed a significant difference on the cariogenic antibacterial potential against *S.mutans*. The LSD 0,05 test analysis showed significant differences on the cariogenic antibacterial potential against *S.mutans* between yoghurt group D from group B, A, C but not significant difference from group E. Group E significant difference from group A, and C but not significant difference from group B. Group B significant difference from group A and C while group C not significant difference from group A. Positive control showed significant difference from all groups. This study concluded that commercially available yoghurt has an cariogenic antibacterial potential against *S.mutans*. The highest potencial value being the group D, then group E, followed by group B,A and C.

Key word : Caries, *Streptococcus mutans*, probiotic, yoghurt, cariogenic antibacterial potential.

Pendahuluan

Karies gigi merupakan penyakit infeksi pada jaringan keras gigi yang menyebabkan kelarutan (deminerlasi) dan kerusakan jaringan organik gigi (interprismata) akibat aktivitas bakteri penghasil asam yang mampu melakukan fermentasi terhadap karbohidrat yang dikonsumsi. Etiologi karies gigi bersifat multifaktorial yaitu melibatkan interaksi antara pejamu (permukaan gigi), diet (substrat), bakteri dalam plak gigi dan waktu.^(1,2) *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) sebagai bakteri yang berasal dari plak gigi, dianggap sebagai salah satu bakteri utama penyebab karies gigi(bakteri kariogenik).

Keberadaan bakteri ini pada saliva dan plak gigi dianggap memiliki korelasi positif dengan insiden dan prevalensi karies gigi⁽³⁾.

Salah satu upaya pencegahan karies gigi yang kini sedang dikembangkan adalah metode probiotik . Metode ini dilakukan secara buatan melalui penggantian bakteri patogen dengan bakteri komensal yang tidak membahayakan di sekitar bagian-bagian tubuh tertentu misalnya di rongga mulut⁽²⁾. Probiotik merupakan suatu preparat atau produk yang mengandung sel-sel mikroorganisme hidup dalam jumlah tertentu yang mampu memberi

efek menguntungkan bagi kesehatan *host* (pejamu) yang mengkonsumsinya melalui penyeimbangan atau penggantian flora mikroorganisme di saluran pencernaan maupun di bagian-bagian lain dari tubuh pejamu yang menjadi target mikroorganisme probiotik seperti rongga mulut, saluran pernafasan atas, paru-paru, lambung dan saluran kemih.⁽⁴⁾ Probiotik yang umumnya digunakan dalam industri makanan dan juga beberapa diantaranya telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik *S.mutans*, terutama menggunakan bakteri-bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* dan *Enterococcus*^(4,5,6). Jenis produk probiotik yang mudah dijumpai dan telah terbukti dapat menurunkan resiko karies gigi pada anak-anak diantaranya dalam bentuk susu fermentasi (yoghurt) dengan kandungan probiotik tertentu misalnya *Lactobacillus rhamnosus*⁽⁷⁾. Produk yoghurt dengan kandungan probiotik *Lactobacillus reuteri* juga terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.mutans*⁽⁸⁾. Manfaat probiotik yang salah satunya dikembangkan untuk pencegahan karies gigi ini juga dapat diperoleh melalui mekanisme anti bakteri kariogenik dan kemampuan melekat pada *oral mucins* dan plak gigi⁽⁹⁾. Meskipun peran probiotik dalam bentuk yoghurt dianggap bermanfaat dalam mencegah karies gigi, yang masih belum jelas adalah apakah yoghurt dalam bentuk berbagai minuman kemasan yang beredar di pasaran dengan kandungan jenis probiotik spesifiknya masing-masing, juga memiliki potensi anti bakteri kariogenik dan berbedakah potensi anti bakteri kariogeniknya?

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi anti bakteri kariogenik (dalam hal ini terhadap *S.mutans*) dari probiotik dalam berbagai minuman kemasan yoghurt dan mengetahui apakah ada perbedaan potensi anti bakteri kariogenik yang bermakna antara probiotik dalam berbagai jenis minuman kemasan yoghurt tersebut. Dengan demikian penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk membantu masyarakat memilih produk probiotik dalam bentuk minuman kemasan yoghurt yang terbukti memiliki potensi anti bakteri kariogenik

sehingga dapat berfungsi sebagai salah satu alternatif upaya pencegahan karies gigi secara umum.

Bahan dan Cara Kerja

Penelitian ini menggunakan sampel lima jenis minuman kemasan yoghurt yang mudah dijumpai di toko swalayan dengan kandungan probiotik yang bervariasi. Jenis sampel yoghurt yang diteliti, dikategorikan sebagai kelompok A (mengandung komponen probiotik *Lactobacillus casei* strain Shirota); kelompok B (mengandung komponen probiotik *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei* dan kalsium laktat serta perasa yoghurt); kelompok C (mengandung komponen probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perasa leci dan penstabil pectin-E 440a); kelompok D (mengandung komponen probiotik *Lactobacillus delbrueckii/bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dengan perasa strawberi dan pewarna makanan alami Karmin (E 120-CI No.75470) serta penstabil (pectin-E440a) dan kelompok E (mengandung komponen probiotik *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dengan perasa mangga, pewarna makanan alami Annato (E 160b-CI 75120) dan Kurkumin (E 100-CI 75300) serta penstabil (pectin-E440a). Kelompok kontrol positif digunakan antibiotik *amoxicillin* 500 mg (produk kimia farma) dan *erythromycin* 500mg (produk Indo farma). Sampel minuman kemasan yoghurt yang akan diteliti, dibeli langsung dari toko swalayan dalam keadaan dingin (penyimpanan pada suhu lemari es) dan dibawa dalam wadah termos es selama perjalanan ke laboratorium untuk tetap mempertahankan kondisinya pada suhu dingin.

Pemeriksaan potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans* dalam penelitian ini dilakukan melalui metode difusi agar⁽⁸⁾. Kertas saring steril berbentuk cakram (Schleicher & Schuell) berdiameter 6 mm yang telah ditetesi dengan sampel yoghurt diletakkan pada cawan petri (Polystyrene 90x15 mm, Asahi Glass Co.Ltd) berisi bakteri *S. mutans* dalam media agar *Brain Heart Infusion* (BHI; Merck).

Bakteri *S. mutans* yang akan digunakan sebagai bakteri uji ditumbuhkan dalam media BHI cair dan diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Biakan bakteri kemudian diencerkan dengan larutan NaCl 0,8% (Merck) untuk memperoleh jumlah sel bakteri sebesar 10^8 sel/ml, sesuai dengan standar Mc Farland. Biakan yang telah sesuai dengan standar tersebut kemudian digunakan sebagai inokulum.

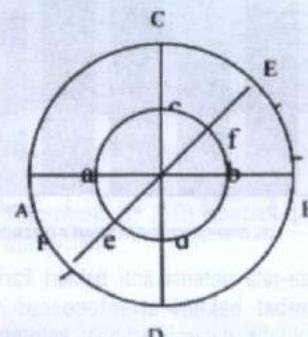
Sebanyak 0,1 ml inokulum bakteri diambil dengan mikropipet (Brand GMBH + CO, 20–200 μ l) dan diinokulasikan pada media BHI agar dalam cawan Petri. Inokulum diratakan dengan cara di swab menggunakan cotton rol steril.

Di atas media yang telah diinokulasikan dengan bakteri, diletakkan 5 buah kertas cakram yang masing-masing berisi 20 μ l sampel yoghurt yang sama dan satu buah kertas cakram berisi 20 μ l antibiotik sebagai kontrol positif. Tiap cawan Petri berisi kertas cakram dengan satu jenis sampel yoghurt yang sama. Antibiotik yang digunakan adalah tablet *amoxicillin* 500 mg (produk kimia farma) dan *erythromycin* 500mg (produk Indo farma) yang dihaluskan dan dilarutkan dalam 10 ml akuades steril.

Seluruh cawan Petri diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Pengukuran potensi anti bakteri dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Cara pengukuran zona hambat yaitu dengan mengambil dua garis saling tegak lurus melalui titik pusat kertas cakram, dan garis ketiga diambil diantara

kedua garis tersebut dengan membentuk sudut 45°. Pengukuran pada kertas cakram yang sama dilakukan sebanyak tiga kali pada tempat yang berbeda dengan menggunakan jangka sorong (Gambar 1) ⁽¹⁰⁾

Hasil



Gambar 1.

Keterangan gambar :

Garis A-B, C-D, E-F	Zona radikal yang terbentuk.
Garis a-b, c-d, e-f	Diameter lubang sumuran.
Pengukuran I	: (AB-ab) : 2
Pengukuran II	: (CD-cd) : 2
Pengukuran III	: (EF-eF) : 2
Daerah Hambatan	= (Pengukuran I + II + III) : 3

Pengumpulan data potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* dari 5 jenis minuman kemasan yoghurt telah dilakukan dengan mengukur besarnya zona hambat bakteri kariogenik *S. mutans* yang terbentuk (gambar 1,2,3,4,5). Nilai rerata dan standar deviasi besarnya zona hambat bakteri kariogenik *S. mutans* oleh probiotik dari berbagai minuman kemasan yoghurt yang uji dalam penelitian ini dapat dilihat selengkapnya pada tabel 1 dan diagram 1.

Tabel 1 Nilai Rerata Dan Standar Deviasi Besarnya Zona Hambat Bakteri Kariogenik *S. mutans* Dari Probiotik Dalam Berbagai Minuman Kemasan Yoghurt

DATA	Rerata	Std. Deviasi
YOGHURT A	1.7060	.86196
YOGHURT B	2.6540	1.00254
YOGHURT C	1.6020	.38173
YOGHURT D	3.4520	.35039
YOGHURT E	2.9580	.50603
KONTROL ERITROMISIN	4.3243	.39772
KONTROL AMOKSILIN	3.0412	.31133
Total	3.1219	1.09808

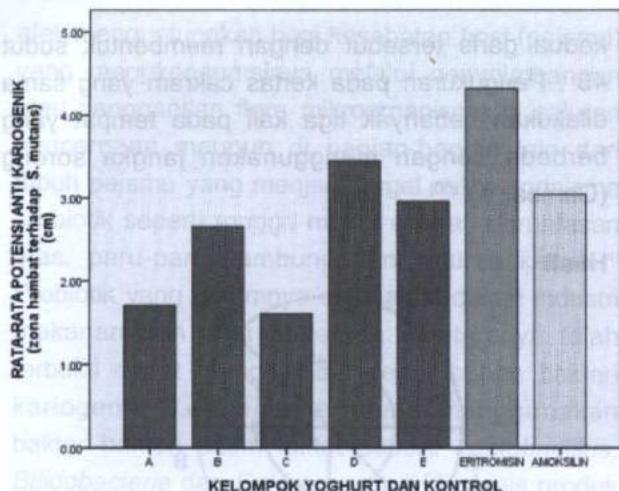


Diagram 1 Rata-rata potensi anti bakteri kariogenik (zona hambat bakteri *streptococcus mutans*) dari probiotik dalam berbagai kelompok minuman kemasan yoghurt dan kelompok kontrol positif (eritmomin dan amoksilin)

Dari hasil perhitungan statistik menggunakan uji F atau Anova satu jalur (Tabel 2) terlihat bahwa F hitung adalah 24,603 dengan probabilitas 0,000. Karena probabilitas tersebut $< 0,05$ maka Hipotesa nol (H_0) : ditolak. Hal ini berarti bahwa terdapat potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* dari probiotik dalam berbagai minuman kemasan yang di uji dalam bentuk besarnya diameter zona hambat bakteri kariogenik *S. mutans* yang terbentuk dengan rata-rata potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yang berbeda.

Tabel 2 Hasil analisis varians satu jalur untuk mengetahui potensi Anti bakteri kariogenik *streptococcus mutans* dari probiotik Dalam berbagai kelompok minuman kemasan yoghurt.

SUMBER	Jk	Db	Rk	F	P
Antar perlakuan	43,640	6	7,273	24,603	0,000
Dalam perlakuan	11,825	40	0,296		
Total	55,466	46			

Keterangan : Jk : Jumlah kuadrat

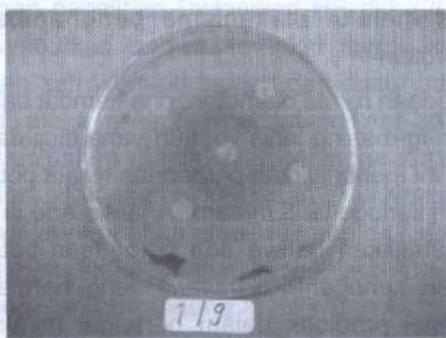
Db : Derajat bebas

Rk : Rerata kuadrat

F : F hitung

P : Probabilitas

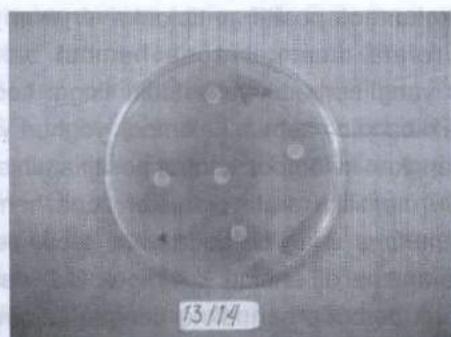
Hasil uji LSD0,05 (*Least Significant Difference*) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yang bermakna antar kelompok jenis minuman kemasan yoghurt dengan kandungan probiotik spesifik yaitu secara rinci sebagai berikut : Potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yoghurt kelompok D berbeda secara bermakna dibandingkan yoghurt kelompok B,A dan C. Namun perbedaan potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yoghurt kelompok D dibandingkan yoghurt kelompok E, tidak bermakna. Potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yoghurt kelompok E berbeda secara bermakna dibandingkan yoghurt kelompok A dan C. Namun perbedaan potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yoghurt kelompok E dibandingkan kelompok B, tidak bermakna. Potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yoghurt kelompok B berbeda secara bermakna dibandingkan kelompok A dan C. Namun perbedaan potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yoghurt kelompok C dibandingkan kelompok A, tidak bermakna. Kelompok kontrol positif yaitu antibiotik erythromycin memiliki potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yang berbeda secara bermakna terhadap seluruh kelompok yoghurt yang diuji. Sedangkan kelompok kontrol positif lainnya yaitu antibiotik amoxicillin memiliki potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* yang berbeda bermakna dengan kelompok yoghurt B,D dan E, namun terhadap kelompok yoghurt A dan C perbedaan potensi anti bakteri kariogenik *S. mutans* tidak bermakna.



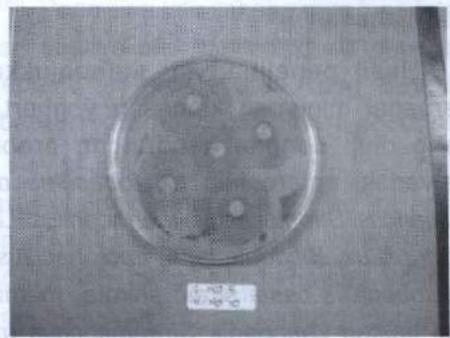
GAMBAR 1 DIAMETER ZONA HAMBAT BAKTERI
S.mutans (1). Pada minuman kemasan yoghurt kelompok A, (9) Kontrol positif antibiotika erythromycin



GAMBAR 3 DIAMETER ZONA HAMBAT BAKTERI
S.mutans (11). Pada minuman kemasan yoghurt kelompok C, (14) Kontrol positif antibiotika erythromycin



GAMBAR 5 DIAMETER ZONA HAMBAT BAKTERI
S.mutans (13). Pada minuman kemasan yoghurt kelompok E, (14) Kontrol positif antibiotika erythromycin



GAMBAR 2 DIAMETER ZONA HAMBAT BAKTERI
S.mutans (5). Pada minuman kemasan yoghurt kelompok B, (10).Kontrol positif antibiotika amoxicillin



GAMBAR 4 DIAMETER ZONA HAMBAT BAKTERI
S.mutans (12). Pada minuman kemasan yoghurt kelompok D, (14) Kontrol positif antibiotika erythromycin

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berbagai minuman kemasan yoghurt komersial yang diuji dengan kandungan probiotik yang bervariasi antara lain *Lactobacillus delbrueckii/bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus casei* strain shirota, memiliki potensi anti bakteri kariogenik *Streptococcus mutans*. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona hambat bakteri yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang ditetesi masing-masing sampel yoghurt pada media agar BHI dengan inokulum bakteri *S.mutans*. Zona hambat bakteri juga terbentuk pada kertas cakram yang ditetesi *erythromycin* dan *amoxicillin* sebagai kelompok kontrol positif.

Hambatan pertumbuhan bakteri kariogenik *S.mutans* oleh probiotik dalam berbagai minuman kemasan yoghurt yang diuji disebabkan antara lain karena probiotik tersebut menghasilkan zat anti terhadap bakteri patogen termasuk bakteri kariogenik *S.mutans*. Dari literatur disebutkan bahwa probiotik yang tergolong sebagai bakteri-bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus acidophilus* memiliki kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin yaitu protein antibakteri yang bersifat letal terhadap beberapa bakteri termasuk yang bersifat patogen⁽¹¹⁾. Penelitian sebelumnya oleh Nikawa H dkk (2004) juga telah membuktikan bahwa konsumsi yoghurt dengan kandungan *L.reuteri* yang mampu memproduksi reuterin sebagai suatu bakteriosin, mampu mengurangi jumlah bakteri kariogenik *S.mutans* secara bermakna⁽⁸⁾. Jika ditilik dari faktor bakteriosin ini, *strain* (jenis) bakteri probiotik secara spesifik tampaknya mempengaruhi efektivitas dari probiotik melalui mekanisme yang berbeda diantaranya melalui pencegahan atau penghambatan proliferasi patogen,⁽¹²⁾

Antibiotik *erythromycin* dan *amoxicillin* sebagai kelompok kontrol positif dalam penelitian ini mampu membentuk zona hambat terhadap bakteri *S.mutans* karena memiliki kemampuan kerja sebagai zat anti bakteri terhadap bakteri gram positif termasuk

S.mutans melalui mekanisme penghambatan sintesis protein⁽¹³⁾.

Perbedaan rerata diameter zona hambat bakteri pada masing-masing jenis yoghurt yang diuji dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan rerata potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*. Analisis Anova dua jalur menunjukkan bahwa ada perbedaan potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans* yang bermakna antar variasi probiotik dalam berbagai minuman kemasan yoghurt ($p<0,05$). Yoghurt kelompok D) dalam penelitian ini memiliki rerata diameter zona hambat (potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*) yang berbeda yaitu lebih besar secara bermakna dibanding yoghurt kelompok B,A dan C. Namun rerata diameter zona hambat (potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*) yoghurt kelompok D ini tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan yoghurt kelompok E. Rerata diameter zona hambat (potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*) yoghurt kelompok E berbeda lebih besar secara bermakna dibanding kelompok A dan C namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok B. Sedangkan rerata diameter zona hambat (potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*) yoghurt kelompok B berbeda yaitu lebih besar secara bermakna dibanding kelompok A dan C. Namun rerata diameter zona hambat (potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*) yoghurt kelompok A, tidak berbeda bermakna dengan kelompok C. Kelompok kontrol positif antibiotika *erytromycin* memiliki rerata diameter zona hambat bakteri *S.mutans* yang berbeda yaitu lebih tinggi secara bermakna dibanding semua kelompok yoghurt yang diuji. Sedangkan kelompok kontrol positif antibiotika *amoxycillin* memiliki rerata diameter zona hambat bakteri *S.mutans* yang berbeda yaitu lebih besar secara bermakna dibanding kelompok B,D dan E namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok A dan C.

Alasan yang mungkin dapat menjelaskan hal ini antara lain adalah adanya perbedaan konsentrasi zat anti bakteri kariogenik *S.mutans* (dalam hal ini kadar probiotik) yang terkandung dalam masing-masing kelompok yoghurt uji. Hal ini sejalan

dengan penelitian Dwiandiari HP dkk (2006) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi jumlah zat aktif anti bakteri dari suatu bahan yang diteliti maka makin banyak zat aktif anti bakteri yang terlarut dalam media agar sehingga zona hambat bakteri akan semakin besar.⁽¹⁰⁾. Kekuatan anti bakteri suatu bahan atau zat yang diuji dipengaruhi oleh perbedaan tingkat konsentrasi zat aktif anti bakteri yang dikandung^(14) dalam 10)

Literatur lain menyebutkan bahwa diameter zona hambat bakteri yang terbentuk juga tergantung pada daya resap zat anti bakteri kedalam media agar dan kepekaan bakteri terhadap suatu zat anti bakteri.⁽¹⁰⁾

Selanjutnya, faktor lain yang mungkin mempengaruhi perbedaan rerata diameter zona hambat bakteri (potensi anti bakteri kariogenik *S.mutans*) adalah adanya tambahan zat pewarna tertentu kedalam minuman kemasan yoghurt yang diuji. Pada yoghurt kelompok D dengan rerata diameter zona hambat terbesar dibanding kelompok yoghurt lainnya, tercatat mengandung komponen zat pewarna makanan alami Karmin (E 120-CI No.75470). Sedangkan yoghurt kelompok E dengan rerata diameter zona hambat yang setara dengan kelompok D tercatat mengandung komponen zat pewarna makanan alami Annato (E 160B-CI 75120) dan Kurkumin (E 100-CI 75300). Walaupun efek hambatan bakteri kariogenik *S.mutans* oleh ketiga macam zat pewarna tadi belum diketahui secara jelas dan perlu dibuktikan, penelitian Rasooly R (2005) tentang efek bakterisid dari zat pewarna makanan jenis *Phyloine B* terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan potensinya sebagai bahan antibiotik, dapat menjadi dasar bagi pemikiran tersebut⁽¹⁵⁾. Zat pewarna makanan *Phyloine B* tergolong sebagai salah satu *halogenated fluorescein* diketahui bersifat fotoreaktif yang mampu membentuk molekul oksigen excited (*singlet oxygen*) ketika disinari cahaya. *Singlet oxygen* ini bersifat sitotoksik terhadap bakteri karena mampu bereaksi dengan biomolekul bakteri seperti lemak, protein dan asam nukleat yang mengakibatkan kematian

sel bakteri⁽¹⁶⁾. Penelitian lain sebelumnya juga telah membuktikan adanya efek bakterisid zat pewarna makanan *eosin*, *erythrosin* dan *Rose Bengal* terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*⁽¹⁶⁾.

Pengaruh faktor keasaman atau pH dan penggunaan sejumlah besar kompleks *strain* bakteri dari masing-masing minuman kemasan yoghurt yang diuji dalam penelitian ini kemungkinan juga berperan mempengaruhi munculnya perbedaan diameter zona hambat bakteri kariogenik *S.mutans*. Asumsi ini didasarkan pada hasil penelitian Neviani E dkk (1995) yang membuktikan bahwa pada pembuatan keju Parmesan, penggunaan *whey starter* alamiah dari berbagai spesies bakteri akan menyebabkan peningkatan kondisi keasaman yang meningkat dengan cepat pada proses fermentasi. Kondisi asam ini akan diikuti oleh adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme *spoilage*. Kompleks spesies bakteri alamiah utama yang digunakan dalam *whey starter* meliputi *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp.bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp lactis* dan *Lactobacillus fermentum*⁽¹⁷⁾. Mengacu pada penelitian tersebut maka penjelasan yang mungkin terhadap rerata diameter zona hambat bakteri kariogenik *S.mutans* yang cukup besar pada yoghurt kelompok D,E dan B secara berurutan dalam penelitian ini antara lain adalah karena kelompok tersebut mengandung lebih dari satu jenis probiotik. Pada yoghurt kelompok D dan E mengandung probiotik yang terdiri dari kompleks spesies bakteri *Lactobacillus delbrueckii/bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Sedangkan probiotik dalam yoghurt kelompok B terdiri dari kompleks spesies bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, dan *Lactobacillus casei*. Pada yoghurt kelompok A hanya mengandung probiotik dari satu *strain* spesies bakteri yaitu *Lactobacillus casei strain Shirota* dengan rerata diameter zona hambat bakteri kariogenik *S.mutans* terkecil bila dibandingkan kelompok yoghurt lainnya. Faktor temperatur pada saat inkubasi tampaknya juga dapat mempengaruhi diameter zona hambat

8. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, et al. *Lactobacillus reuteri* in Bovine Milk Fermented Decreases The Oral Carriage of Mutans Streptococci. *Int J Food Microbiol* 2004. Available online at www.sciencedirect.com.
 9. Connolly E, Mollstam B. Use of Lactic Acid Bacteria For Reducing Dental Caries and Bacteria Causing Dental Caries. <http://www.ultra.com.tw>. Diakses 7 Februari 2009.
 10. Dwiandari HP, Widjijono, Sastromihardjo W. Pengaruh Konsentrasi Propolis Terhadap Daya Anti Bakteri *Staphylococcus aureus* (kajian secara in vitro). *Ind J of Dentistry*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, Jakarta 2006;13(3):156-159.
 11. Karthikeyan V, Santhosh SW. Study of Bacteriocin as a Food Preservative and the *L.acidophilus* Strain as Probiotic. *Pakistan Journal of Nutrition* 2009; 8 (4):335-340.
 12. Jones SE, Versalovic J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* Biofilms Produce Antimicrobial and Anti Inflammatory Factors. *BMC Microbiology* 2009; 9(35):1-9.
 13. Jawetz E, Melvick JI, Adelbaerg EA. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1995 : 153-156.
 14. Jawetz E, Melvick JI, Adelbaerg EA. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 15. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1991: 245-256.
 15. Rasooly R. Expanding the Bactericidal Action of Food Color Additive Phloxine B to Gram-Negative Bacteria. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2005; 45:239-244.
 16. Rasooly A, Weisz A. In vitro Antibacterial Activities of Phloxine B and Other Halogenated Fluoresceins Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Antimic. Agents Chemother 2002; 46(11):3650-3653.
 17. Zaazou MH, Abu El-Yazeed M, Galal M et al. A Study of The Effect of Probiotic Bacteria on Level of *Streptococcus Mutans* in Rats. *Journal of Applied Science Research* 2007; 3(12):1835-1841.
 18. Kensuke S. Bactericidal Activity of Probiotic Culture on food-borne pathogen in vitro. Annual Report of The Yakult Institute for Microbiological Research, Yakult Honsha Co.Ltd. Central Ins 2000; (20): 1-10.