

# PENGARUH LAMA PERENDAMAN RESIN KOMPOSIT NANOHYBRID DALAM SALIVA pH ASAM TERHADAP PERLEKATAN *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Nilasary Rochmanita Suparno<sup>1\*</sup>, Nurul Ulfi Hidayah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Staff Pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>2</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

## ABSTRAK

Resin komposit *nano hybrid* merupakan resin komposit universal yang sering digunakan pada restorasi anterior maupun posterior. Bahan restorasi di dalam rongga mulut berkontak dengan saliva. Kondisi rongga mulut dengan saliva pH asam dapat menyebabkan pertumbuhan optimum bakteri kariogenik seperti *Streptococcus mutans*. Lama bahan restorasi berkontak dengan saliva pH asam dapat menyebabkan kekasaran permukaan. Kekasaran permukaan bahan restorasi merupakan salah satu faktor penyebab meningkatnya perlekatan bakteri. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama perendaman resin komposit *nano hybrid* dalam saliva pH asam selama 1, 7, dan 14 hari terhadap perlekatan *Streptococcus mutans*. Sampel resin komposit *nano hybrid* berbentuk disk sebanyak 27 dibagi menjadi 3 kelompok yang kemudian masing-masing kelompok direndam dalam saliva buatan pH 4,5 selama 1, 7, dan 14 hari. Setelah itu, sampel direndam dalam suspensi *Streptococcus mutans* selama 24 jam. Perhitungan koloni *Streptococcus mutans* menggunakan alat *colony counter*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji variansi satu jalur dan *post hoc Bonferroni*. Hasil penelitian menunjukkan rerata jumlah koloni *Streptococcus mutans* paling banyak pada kelompok perendaman 14 hari (124,89 CFU/ml), sedangkan paling sedikit pada kelompok perendaman 1 hari (45,11 CFU/ml). Analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ( $p < 0,05$ ). Kesimpulan penelitian adalah lama perendaman resin komposit *nano hybrid* dalam saliva pH asam berpengaruh terhadap perlekatan *Streptococcus mutans* dan lama perendaman resin komposit *nano hybrid* selama 1, 7, dan 14 hari dalam saliva pH asam meningkatkan perlekatan *Streptococcus mutans*.

**Kata Kunci:** resin komposit *nano hybrid*, lama perendaman, saliva pH asam, *Streptococcus mutans*

## ABSTRACT

*Nano hybrid composite resin is universal composite resin that are commonly used for both anterior and posterior restoration. Restoration materials in oral cavity always contact with saliva. Oral cavity with acidic pH saliva can cause optimum growth of cariogenic bacteria, like Streptococcus mutans. Prolong time of restoration material contact with acidic pH saliva can cause surface roughness. Surface roughness of restoration material is one of factors that increase of bacterial adhesion. The aim of study was to determine the effect of immersion time of nano hybrid composite resin in acidic pH saliva (1, 7, and 14 days) to Streptococcus mutans adhesion. Twenty seven of nano hybrid composite resin discs are divided into 3 groups. Samples were immersed in artificial saliva with 4.5 pH for 1,7, and 14 days. All samples were immersed to Streptococcus mutans suspension, then incubated for 24 hours. The amount of Streptococcus mutans were counted using colony counter. The results were analyzed by one way ANOVA with Bonferonni post hoc test. The results of study showed that the highest mean of Streptococcus mutans colony was on 14 days immersion group (124.89 CFU/ml) and the lowest mean was on 1 days immersion group (45.11 CFU/ml). The statistical analysis showed that significantly difference between groups ( $p < 0.05$ ). It can then be concluded that immersion time of nano hybrid composite resin in acidic pH saliva could effect the Streptococcus mutans adhesion and the immersion time of nano hybrid composite resin for 1,7, and 14 days in acidic pH saliva increased the amount of Streptococcus mutans adhesion.*

**Keywords:** *nano hybrid composite resin, immersion time, acidic pH saliva, Streptococcus mutans*

\* Penulis Korespondensi.

E-mail: [nrs156@ums.ac.id](mailto:nrs156@ums.ac.id)

Jl. Kebangkitan Nasional No. 101 Penumping,  
Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

Submisi : Oktober 2019; Revisi : November 2019;

Penerimaan : Desember 2019

## PENDAHULUAN

Salah satu bahan restorasi yang sering digunakan adalah resin komposit.<sup>[1]</sup> Resin komposit dapat menggantikan struktur gigi yang hilang, memperbaiki warna dan kontur gigi sehingga dapat meningkatkan estetika.<sup>[2]</sup> Teknologi nano di bidang kedokteran gigi semakin berkembang pesat. Salah satu pengembangan dengan teknologi nano yaitu pada *filler* bahan restorasi resin komposit. Jenis resin komposit yang mengandung partikel berukuran nano yaitu resin komposit *nanohybrid*.<sup>[3]</sup> Resin komposit *nanohybrid* dapat digunakan untuk restorasi anterior maupun posterior.<sup>[3,4]</sup>

Bahan restorasi di dalam rongga mulut berkontak dengan saliva.<sup>[5]</sup> Konsumsi makanan dan minuman dapat berpengaruh terhadap derajat keasaman pH saliva. Makanan dan minuman yang mengandung gula serta minuman ringan, dapat menyebabkan penurunan pH saliva.<sup>[6]</sup> Kondisi rongga mulut pada pH asam dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri kariogenik seperti *Streptococcus mutans* yang dapat tumbuh optimum pada kondisi pH rendah.<sup>[7]</sup>

Komponen penyusun saliva terbesar merupakan air dan resin komposit memiliki kecenderungan menyerap air.<sup>[6,8]</sup> Penyerapan air pada resin komposit terjadi melalui difusi ke ruang antar molekul matriks resin dan menyebabkan molekul terdesak kesamping, sehingga terjadi kerusakan matriks resin (degradasi). Proses degradasi menyebabkan terjadinya kerusakan mikrostruktur resin komposit berupa ketidakteraturan permukaan seperti tonjolan *filler* sehingga terjadi kekasaran permukaan resin komposit.<sup>[9]</sup> Saliva dengan pH asam mempunyai ion  $H^+$  berlebih sehingga terjadi reaksi ion  $H^+$  dengan gugus metakrilat matriks resin komposit. Ion  $H^+$  memengaruhi keluarnya ion pada matriks resin. Keluarnya ion pada matriks resin mengakibatkan ikatan matriks resin tidak stabil dan terjadi pemutusan ikatan matriks resin yang mengakibatkan matriks resin mudah larut dan terurai.<sup>[10]</sup>

Kekasaran permukaan pada resin komposit berpengaruh terhadap terjadinya perlekatan bakteri *Streptococcus mutans*.<sup>[11]</sup> Permukaan yang kasar pada bahan restorasi meningkatkan akumulasi perlekatan bakteri pada bahan restorasi.<sup>[12]</sup> Perlekatan awal dan pembentukan kolonisasi bakteri pada permukaan restorasi

seperti resin komposit merupakan kunci terjadinya peningkatan karies sekunder.<sup>[13]</sup>

## METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni laboratoris. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. Penelitian sudah dinyatakan layak untuk dilakukan sesuai dengan surat izin kelaikan etik diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Moewardi dengan No. 22/I/HERC/2018.

Penelitian diawali dengan pembuatan sampel yaitu menggunakan resin komposit *nanohybrid* Filtek Z250 XT (3M ESPE, *Shade* A3), dengan cetakan logam berbentuk disk dengan diameter 5 mm dan tebal 3 mm. Bagian bawah cetakan diberi alas *glass plate* yang dilapisi *celluloid strip*. Resin komposit diaplikasikan menggunakan *plastis instruments* ke dalam cetakan sampai cetakan terisi penuh, kemudian dikondensasi dan dilakukan penyinaran menggunakan *light curing unit* (Woodpecker, USA) dengan arah tegak lurus terhadap permukaan sampel. Sampel disinari selama 20 detik dengan jarak penyinaran 2-3 mm dan dilakukan dari 2 arah. Kemudian sampel dilakukan *finishing* dan *polishing*. Tahap tersebut diulangi sampai mendapatkan jumlah sebanyak 27 sampel. Sampel dan alat-alat penelitian disterilkan dengan *autoclave* (Rexall, USA) pada suhu  $121^{\circ}C$  selama 30 menit.<sup>[1,14,15]</sup>

Sampel dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan lama perendaman yaitu kelompok lama perendaman dalam saliva pH asam selama 1 hari, 7 hari dan 14 hari. Masing-masing kelompok terdiri dari 9 sampel. Kemudian sampel direndam dalam *conical tube* yang berisi 10 ml saliva buatan pH 4,5. Perendaman sampel dalam posisi digantung pada ketinggian yang sama menggunakan benang. Perendaman sampel diletakkan pada inkubator (Sanyo, Japan) pada suhu  $37^{\circ}C$  sesuai lama perendaman.<sup>[16,17]</sup>

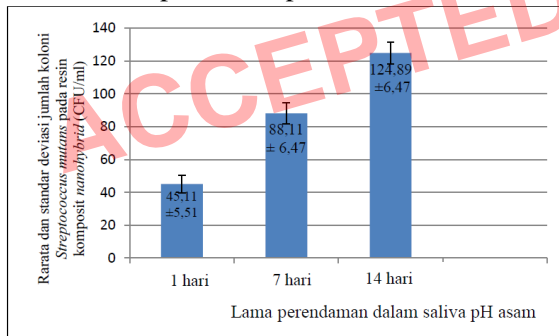
Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dibuat dengan cara mengambil mikroorganisme *Streptococcus mutans* dengan jarum ose steril, kemudian disuspensikan ke dalam tabung larutan NaCl 0,9%. Suspensi tersebut kemudian disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland diperkirakan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Sampel resin komposit yang telah direndam di dalam saliva

buatan sesuai lama perendaman diambil dan direndam ke dalam suspensi *Streptococcus mutans* dengan volume perendaman 3 ml dan diletakkan pada inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.<sup>[14]</sup>

Sampel diambil dengan pinset dan dimasukkan ke dalam *conical tube* yang berisi 10 ml NaCl, dilakukan penggetaran dengan *vortex* (Gemmy, Taiwan) selama 1 menit untuk melepaskan bakteri *Streptococcus mutans* yang melekat pada permukaan sampel, kemudian media yang berisi *Streptococcus mutans* tersebut dilakukan pengenceran berseri sampai dengan pengenceran 10<sup>-5</sup>. Hasil pengenceran terakhir dikeluarkan sebanyak 0,1 ml dan disebarkan dengan *spreader* pada permukaan media agar BHI (*Brain Heart Infusion*) di cawan petri. Media agar BHI diinkubasi 2 x 24 jam dengan suhu 37°C.<sup>[14,18]</sup> Koloni *Streptococcus mutans* yang tumbuh di media agar BHI dihitung menggunakan alat *colony counter* (IUL Instrument, Spanyol) dengan satuan CFU/ml.<sup>[14,19]</sup>

**HASIL PENELITIAN**

Hasil penelitian diperoleh nilai rerata dan standar deviasi dari jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid* setelah perendaman dalam saliva pH asam selama 1, 7 dan 14 hari dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Rerata dan standar deviasi jumlah koloni *Streptococcus mutans* yang melekat pada resin komposit *nanohybrid*

Gambar 1 menunjukkan adanya perbedaan rerata jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada tiap kelompok perlakuan. Nilai rerata jumlah perlekatan *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid* paling banyak terdapat

pada kelompok lama perendaman dalam saliva pH asam selama 14 hari yaitu 124,89 CFU/ml, sedangkan nilai rerata jumlah perlekatan *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid* paling sedikit pada kelompok perendaman dalam saliva pH asam selama 1 hari yaitu 45,11 CFU/ml.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* data jumlah perlekatan *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal untuk semua kelompok ( $p > 0,05$ ), kemudian hasil uji *Levene* untuk uji homogenitas menunjukkan bahwa data yang diuji homogen untuk semua kelompok ( $p > 0,05$ ), sehingga selanjutnya data dapat dilakukan uji *one way ANOVA* seperti yang terangkum pada Tabel 1.

Hasil uji *one way ANOVA* pada Tabel 1 menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ), yang berarti bahwa lama perendaman resin komposit *nanohybrid* dalam saliva pH asam berpengaruh terhadap perlekatan *Streptococcus mutans*. Data selanjutnya dilakukan uji *post hoc Bonferroni*. Rangkuman uji *Bonferroni* dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil uji *post hoc Bonferroni* (Tabel 2) menunjukkan perbedaan yang bermakna rerata jumlah koloni *Streptococcus mutans* antara kelompok 1 hari, 7 hari, dan 14 hari. Hal ini dapat dilihat dari nilai signifikansi kelompok tersebut, yang secara keseluruhan nilai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ).

**PEMBAHASAN**

Resin komposit memiliki komponen utama yaitu matriks resin, bahan pengisi (*filler*) dan bahan pengikat (*coupling agent*).<sup>[1]</sup> Resin komposit *nanohybrid* merupakan jenis resin komposit terbaru yaitu komposit nano.<sup>[3]</sup> Resin komposit di dalam rongga mulut berkontak dengan saliva.<sup>[5]</sup> Derajat keasaman (pH) saliva setiap individu berbeda-beda. Derajat keasaman saliva rata-rata berkisar antara pH 6,75 dan 7,25. Derajat keasaman (pH) saliva yang rendah antara 4,5-5,5 dapat memudahkan pertumbuhan bakteri seperti *Streptococcus mutans*.<sup>[20]</sup>

**Tabel 1.** Rangkuman uji *one way ANOVA* jumlah koloni *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid*

|                 | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rerata Kuadrat | F       | Nilai Sig. |
|-----------------|----------------|---------------|----------------|---------|------------|
| Antar Perlakuan | 28698,296      | 2             | 14349,148      | 377,333 | 0,000      |
| Dalam Perlakuan | 912,667        | 24            | 38,028         |         |            |
| Total           | 29610,963      | 26            |                |         |            |

**Tabel 2.** Rangkuman uji *post hoc Bonferroni* jumlah koloni *Streptococcus mutans* antar kelompok

| Lama perendaman | 1 hari | 7 hari | 14 hari |
|-----------------|--------|--------|---------|
| 1 hari          |        | 0,000  | 0,000   |
| 7 hari          | 0,000  |        | 0,000   |
| 14 hari         | 0,000  | 0,000  |         |

Keterangan tanda (\*): perbedaan rerata yang signifikan ( $p < 0,05$ )

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama perendaman resin komposit *nanohybrid* dalam saliva pH asam berpengaruh terhadap perlekatan *Streptococcus mutans*, hal ini dikarenakan kondisi pH saliva asam yang memengaruhi pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.<sup>[7]</sup> Lama perendaman dalam saliva pH asam juga diketahui berpengaruh terhadap sifat resin komposit yaitu terjadinya kekasaran permukaan resin komposit.

Kekasaran permukaan merupakan faktor retensi perlekatan bakteri *Streptococcus mutans* pada permukaan resin komposit. Hal itu sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kekasaran permukaan resin komposit berpengaruh terhadap perlekatan bakteri karena kekasaran permukaan merupakan salah satu faktor penting yang menyebabkan perlekatan bakteri rongga mulut. Permukaan kasar pada resin komposit meningkatkan area bakteri untuk dapat melekat pada bahan restorasi resin komposit.<sup>[21]</sup> Bakteri *Streptococcus mutans* pada kondisi pH asam akan tumbuh optimal dan berkembang biak dengan cepat dan adanya kekasaran pada resin komposit *nanohybrid* menjadikan faktor retensi bagi bakteri *Streptococcus mutans* untuk dapat melekat pada permukaan resin komposit *nanohybrid*.<sup>[7,11]</sup>

Resin komposit yang direndam dalam saliva buatan pH asam selama 1, 7, dan 14 hari akan terjadi mekanisme penyerapan air. Komponen penyusun saliva terbesar yaitu 99% air dan komponen penyusun resin komposit yaitu matriks resin memiliki kecenderungan menyerap air.<sup>[6,9,22]</sup> Proses penyerapan air pada resin komposit terjadi paling tinggi pada 1 hari sampai 7 hari dan setelah 7 hari masih terjadi penyerapan air pada resin komposit sampai 6 minggu.<sup>[23]</sup>

Penyerapan air pada matriks resin komposit terjadi melalui difusi molekul air ke ruang antar molekul matriks resin dan mengisi celah antar rantai molekul yang mengakibatkan matriks resin terdesak kesamping dan mengembang sehingga terjadi pemutusan rantai matriks resin. Molekul air menyebabkan degradasi melalui reaksi hidrolisis, sehingga menyebabkan ikatan *filler* dan matriks resin tidak stabil dan juga mudah terjadi kelarutan.<sup>[9,24]</sup>

Resin komposit *nanohybrid* yang terpapar saliva pH asam juga dapat mempercepat terjadinya reaksi hidrolisis pada grup ester matriks resin. Hidrolisis dapat menyebabkan terjadinya pembentukan asam karboksilat dan menjadikan pH rendah di dalam matriks resin.<sup>[25]</sup> Saliva dengan pH asam mempunyai ion  $H^+$  berlebih sehingga terjadi reaksi ion  $H^+$  dengan gugus metakrilat matriks resin komposit. Ion  $H^+$  memengaruhi keluarnya ion pada matriks resin. Keluarnya ion pada matriks resin mengakibatkan ikatan matriks resin tidak stabil dan terjadi pemutusan ikatan matriks resin yang mengakibatkan matriks resin larut dan terurai.<sup>[26]</sup> Hal tersebut berdampak pada kerusakan mikrostruktur dan kekasaran pada resin komposit.<sup>[9]</sup>

Rerata perlekatan bakteri *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid* pada kelompok perendaman dalam saliva pH asam selama 1,7 dan 14 hari secara berurutan yaitu 45,11; 81,11; 124,89 dalam satuan CFU/ml. Kelompok lama perendaman 14 hari memiliki rerata perlekatan bakteri *Streptococcus mutans* pada resin komposit *nanohybrid* lebih banyak dibandingkan kelompok perendaman lainnya. Kondisi pH yang rendah dapat menyebabkan bakteri *Streptococcus mutans* tumbuh optimal



dan berkembang biak dengan cepat. Semakin lama resin komposit *nano hybrid* terpapar oleh saliva pH asam maka akan meningkatkan kekasaran permukaan resin komposit *nano hybrid*, sehingga bakteri *Streptococcus mutans* yang melekat pada permukaan resin komposit *nano hybrid* juga akan mengalami peningkatan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya mengenai pengaruh lama perendaman resin komposit terhadap kekasaran permukaan resin komposit secara indirek.<sup>[16]</sup> Kekasaran permukaan restorasi berpengaruh terhadap perlekatan bakteri. Semakin kasar permukaan resin komposit maka perlekatan bakteri *Streptococcus mutans* semakin meningkat.<sup>[11]</sup>

### KESIMPULAN

1. Lama perendaman resin komposit *nano hybrid* dalam saliva pH asam berpengaruh terhadap perlekatan *Streptococcus mutans*.
2. Lama perendaman resin komposit *nano hybrid* selama 1, 7, dan 14 hari dalam saliva pH asam meningkatkan perlekatan *Streptococcus mutans*.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Hatrick, C. D., Eakle, W. S., Bird, W. F., 2011, *Dental Materials Clinical Applications for Dental Assistants and Dental Hygienists*, St. Louis: Elseiver, hal. 50-9.
2. Sakaguchi, R. L., Powers, J. M., 2012, *Craig's Restorative Dental Materials*. 13<sup>th</sup> ed., St. Louis: Elseiver, hal. 163-9.
3. Harahap, S. A., Sastrodihardjo, S., 2014, Teknologi Nano di Bidang Kedokteran Gigi. *Dentika Dental Jurnal*, Vol. 18(2):194-8.
4. Garcia, A. H, Lozano M. A. M., Vila J. C., Escribano, A. B., Galve, P. F., 2006. Composite Resins: A Review of the Materials and Clinical Indications, *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*, Vol. 11: 215-20.
5. Pribadi N., Soetojo, A., 2011, Effect of Different Saliva pH on Hybrid composite Resin Surface Roughness., *Dental Journal Maj. Ked. Gigi*, Vol. 44(2): 63-6.
6. Sundoro, E. H., 2005, *Serba-Serbi Ilmu Konservasi Gigi*, Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), hal. 84-7.
7. Kusumaningsari, V., Handajani, J., 2011, Efek Pengunyahan Permen Karet Gula dan Xylitol Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* pada Plak Gigi, *Maj. Ked. Gigi*, Vol. 8(1): 30-4.
8. Achmad, M. H., 2015, *Karies dan Perawatan Pulpa pada Gigi Anak*, Jakarta: CV. Sagung Seto, hal. 181-195.
9. Yudhit A., Rusfian, Illice C. W., 2013, Penyerapan Air dan Kelarutan Resin Komposit Mikrohibrid dan *Nano hybrid*, *MDJ*, Vol. 2(4): 1-5.
10. Nurmalasari, A., 2015, Perbedaan Kekasaran Permukaan Resin Komposit Nano pada Perendaman Teh Hitam dan Kopi, *Jurnal Wiyata*, Vol. 2(1):1-6.
11. Rahman, A., Mohamad, D., Ghani A., Hasan, H., Abdullah, N.A., 2015, Effect of Surface Roughness on Accumulation of *Streptococcus mutans* on Nanofilled Tooth Colored Restorative Materials, *Malaysian Journal of Microscopy*, Vol. 11(201): 16-21.
12. Pei Yu, Chuanyong, W., Jinglin Z., Jiang L., Xue, J., Li, W., 2016. Influence of Surface Properties on Adhesion Forces and Attachment of *Streptococcus mutans* to Zirconia In Vitro, *BioMed Research International*, 1-10.
13. Pereira C. A., Eskelson E., Cavalli V., Liporoni., Jorge A. O. C., do Rego M. A., 2011, *Streptococcus mutans* Biofilm Adhesion on Composite Resin Surfaces After Different Finishing and Polishing Techniques, *Operative Dentistry*, Vol. 36(3): 311-17.
14. Anggraeni, A., Yuliati, A., Nirwana, I., 2005, Perlekatan Koloni *Streptococcus mutans* pada Permukaan Resin Komposit Sinar Tampak, *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)*, Vol. 38(1): 8-11.
15. Anusavice, K. J., Shen, C., Rawls H. R., 2013, *Phillip's Science of Dental Materials*, 12<sup>th</sup> ed., Missouri: Elsevier Saunders, hal. 277-91.
16. Chengiz, S., Yuzbasioglu, E., Cengiz. M. I., Velioglu, N., Sevimli, G., 2015, Color Stability and Surface Roughness of a Laboratory-Processed Composite Resin as a Function of Mouthrinse, *J. Esthet. Restor. Dent.*, Vol. 27(5): 314-21.
17. Aprilia, Rochyani, L., Rahardianto, E., 2007, Pengaruh Minuman Kopi terhadap

- Perubahan Warna pada Resin Komposit. *JDI*, Vol. 14(3): 164-70.
18. Pollack, R. A., Findly, L., Mondscsein, W., Modesto, R. R., 2016, *Mikrobiologi: Praktik Laboratorium*, 4<sup>th</sup> ed. Jakarta: EGC, hal. 49-51.
  19. Fransiska, Nuryanti, A., Puspita, R.M., 2012, Pengaruh Lama Paparan Gelombang Ultrasonik Frekuensi Terapi terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus mutans*, *Maj. Ked. Gigi*, Vol. 19(1): 1-4.
  20. Marsh, P. D., Martin, M., Williams, D.W., 2009, *Oral Microbiology*, 5<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone: Elsevier, hal. 30-35.
  21. Ikeda M., Matin, K., Nikaido, T., Foxton, R. M., Tagami, J., 2007. Effect of Surface Characteristics on Adherence of *S. mutans* Biofilm to Indirect Resin Composit, *Dental Material Journal*, Vol. 26(6): 915-23.
  22. Tarigan, R., 2013. *Karies Gigi*. Jakarta: EGC, hal. 21-8.
  23. Biradar, B., Biradar, S., Arvind, M. S., 2012, Evaluation of the Effect of Water on Three Different Light Cured Composite Resin Restorative Materials Stored in Water: An In Vitro Study, *International Journal of Dentistry*, 1-5.
  24. Ratna, A. A., Triaminingsih, S., Eriwati, Y. K., 2017. The Effect of Prolonged Immersion of Giomer Bulkfill Composite Resin on the pH Value of Artificial Saliva and Resin Surface Roughness, *Journal of Physics*. Vol. 884: 1-5.
  25. Prakki, A., Cilli, R., Mondelli, R. F. L., Kalachandra, S., Pereira, J. C., 2005, Influence of pH Environment on Polymer Based Dental Material Properties, *J. Dent.*, Vol. 339(1): 91-98.
  26. Langen, E. N., Rumampuk, J. F., Leman, M. A., 2017, Pengaruh Saliva Buatan dan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap Kekerasan Resin Komposit *Nanohybrid*, *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, Vol. 6(1): 9-15.