

**IDENTIFIKASI JENIS MIKROORGANISME
YANG TERKONTAMINASI PADA SIKAT
GIGI BIASA BERDASARKAN
WAKTU PENGGUNAAN**

SKRIPSI



**Oleh:
MSY INDRI PUTRI KH
04031381520046**

**BAGIAN KEDOKTERAN GIGI DAN MULUT
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
PALEMBANG
2020**

**IDENTIFIKASI JENIS MIKROORGANISME
YANG TERKONTAMINASI PADA SIKAT
GIGI BIASA BERDASARKAN
WAKTU PENGGUNAAN**

**Diajukan sebagai persyaratan untuk memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Sriwijaya**

**Oleh:
Msy Indri Putri Kh
04031381520046**

**BAGIAN KEDOKTERAN GIGI DAN MULUT
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
PALEMBANG
2020**

**HALAMAN PERSETUJUAN
DOSEN PEMBIMBING**

SKRIPSI YANG BERJUDUL:

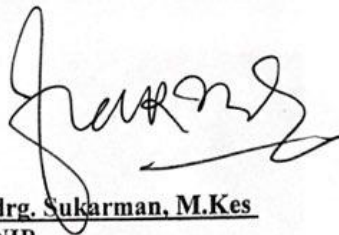
**IDENTIFIKASI JENIS MIKROORGANISME YANG
TERKONTAMINASI PADA SIKAT GIGI BIASA
BERDASARKAN WAKTU PENGGUNAAN**

Diajukan sebagai persyaratan untuk memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Sriwijaya

Palembang, Januari 2020

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



drg. Sukarman, M.Kes
NIP.

Dosen Pembimbing II



dr. Ella Amalia, M.Kes
NIP. 1984101420101220077

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

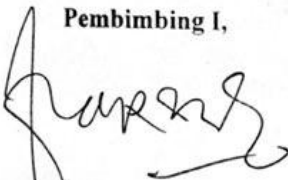
IDENTIFIKASI JENIS MIKROORGANISME YANG
TERKONTAMINASI PADA SIKAT GIGI BIASA
BERDASARKAN WAKTU PENGGUNAAN

Disusun oleh:
Msy Indri Putri Kh
04031381520046

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji
Program Studi Kedokteran Gigi
Tanggal, 15 Januari 2020

Yang terdiri dari:

Pembimbing I,


drg. Sukarman, M.Kes
NIP.

Pembimbing II,


dr. Ella Amalia, M.Kes
NIP. 1984101420101220077

Penguji I,


drg. Sulistiawati, Sp.Perio
NIP. 198510292009122005

Penguji II,


drg. Shanty Chairani, M.Si
NIP. 198010022005012001



Mengetahui,
Kepala Bagian Kedokteran Gigi dan Mulut
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya


dr. Sri Wahyuningsih Rais, M.Kes., Sp.Pro
NIP. 196911302000122001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan:

1. Karya saya, skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (S, KG), baik di Universitas Sriwijaya maupun di perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dari penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim pembimbing dan masukan tim penguji.
3. Isi pada karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagi acuan dalam naskah dengan disebutkan sama pengarangdan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pelaksanaan prosedur penelitian yang dilakukan dalam proses pembuatan karya tulis ini adalah sesuai dengan prosedur penelitian yang tercantum.
5. Hasil penelitian yang dicantumkan pada karya tulis adalah benar hasil yang didapatkan pada saat penelitian dan bukan hasil rekayasa.
6. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Palembang, Januari 2020
Yang membuat Pernyataan,



Msy Indri Putri Kh
NIM. 04031381520046

HALAMAN PERSEMBAHAN



Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

Ayah dan Ibu, Aak dan Adikku....

Serta Yai dan Nyai.....

**Keluarga Besarku, Sahabat-sahabatku, dan Exodontia yang
senantiasa memberikan doa dan dukungan.**

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas segala berkah dan rahmat-Nya sehingga skripsi yang berjudul **“Identifikasi Jenis Mikroorganisme yang Terkontaminasi pada Sikat Gigi Biasa Berdasarkan Waktu Penggunaan”** dapat diselesaikan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna karena segala keterbatasan yang ada. Penyusunan dan penelitian dari skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. drg. Sri Wahyuningsih Rais, M.Kes, Sp.Pros selaku Ketua Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya.
2. drg. Sukarman, M.Kes dan dr. Ella Amalia, M.Kes selaku dosen pembimbing yang terus membimbing, memberikan dukungan moril, saran semangat, dan meluangkan waktunya dan selalu sabar dalam membimbing penulis, serta doa hingga tersusunnya skripsi ini.
3. drg. Sulistiawati, Sp.Perio dan drg. Shanty Chairani, M.Si selaku dosen penguji atas kesediaannya menguji, memberikan saran dan bimbingan, serta tambahan ilmu dalam penyusunan skripsi ini.
4. Staf dosen Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu dan kecakapan selama proses pendidikan.
5. Staf pegawai Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Sriwijaya yang telah memberikan bantuan selama proses pendidikan dan penyelesaian skripsi.
6. Staf pegawai laboratorium Bioteknologi Universitas Sriwijaya yang telah memberikan bantuan selama proses penelitian untuk penyelesaian skripsi.
7. Ayah dan Ibu yang Tersayang yaitu Mgs H. Edy Yusuf dan Ny. Evi Susanti, aak dan adikku yaitu Mgs. Abdurahman Putra Pratama dan Mgs. Rafi Yusuf yang selalu bersedia membantu, memberikan dukungan doa, dan semangat.
8. Seluruh keluarga besarku, yai dan nyai yang selalu memberikan doa dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Faizal Perdana yang selalu setia mendengarkan keluh kesah penulis, menghibur disaat penulis merasa sedih, memberi motivasi disaat penulis merasa lelah, dan selalu siap memberikan bantuan disaat penulis butuh.
10. RA. Anisa Salsabila, Hasna Afifah dan Nyimas Rafika A, yang selalu menemani, membantu, menghibur, mendengarkan penulis dan memberikan semangat kepada penulis dari awal perkuliahan hingga saat ini.
11. Cawa (Nened, Bella, Ade, Tatam, Mutek, Rini, Aisyah, Qoyyum, Rio, Deky, Waton, Takami, Fadhil, Putra, Mutik, dan Arin) yang selalu mendukung penulis selama kuliah dan penyusunan skripsi.

12. Chika, Linda, Firyal, Amel, Bella, Iam, Thejak, Ardo, Bale dan teman-temanku yang tidak bisa disebutkan satu-satu yang selalu mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi.
13. Teman-teman Exodontia yang telah memberikan dukungan, doa, dan bantuan selama masa perkuliahan.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah terlibat dalam proses penyusunan skripsi ini, mohon maaf jika tidak disebutkan namanya.

Semoga Allah membalas segala kebaikan dan bantuan yang telah diberikan selama ini. Akhirnya kritik dan saran sangat diharapkan untuk perbaikan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya.

Palembang, Januari 2020
Penulis

Msy Indri Putri Kh

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Sikat Gigi	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Syarat Ideal.....	5
2.1.3 Metode Menyikat Gigi.....	6
2.1.4 Waktu dan Frekuensi Menyikat Gigi.....	11
2.2 Mikroorganisme yang Terkontaminasi pada Sikat Gigi	12
2.2.1 Pengertian.....	12
2.2.2 Pembagian.....	13
2.3 Kontaminasi Sikat Gigi dan Tempat Penyimpanan Sikat Gigi.....	17
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	18
2.5 Kerangka Teori	22
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Jenis Penelitian.....	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.2.1 Tempat Penelitian.....	23
3.2.2 Waktu Penelitian.....	23
3.3 Subjek dan Sampel Penelitian.....	23
3.3.1 Subjek Penelitian.....	23
3.3.2 Kriteria Inklusi.....	24
3.3.3 Kriteria Eksklusi.....	24
3.3.4 Sampel.....	24
3.4 Variabel Penelitian.....	25
3.4.1 Variabel Bebas.....	25

3.4.2 Variabel Terikat.....	26
3.4.3 Variabel Terkendali	26
3.4.4 Variabel Tidak Terkendali.....	26
3.5 Definisi Operasional.....	27
3.6 Kerangka Konsep.....	28
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.7.1 Alat.....	28
3.7.2 Bahan.....	31
3.8 Cara Kerja.....	31
3.8.1 Uji Kelayakan Etik.....	31
3.8.2 Persiapan Subjek.....	32
3.8.3 Tahapan Ekstraksi DNA dari Sikat Gigi.....	35
3.8.4 Desain Primer.....	37
3.8.5 Cara Kerja PCR.....	38
3.8.6 Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis Gel Agarosa.....	39
3.9 Analisis Data.....	39
3.10 Alur Penelitian	40
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1 Hasil Penelitian.....	41
4.2 Pembahasan.....	44
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional.....	27
Tabel 2. Skor Indeks Plak <i>Loe dan Sillness</i>	34
Tabel 3. Komposisi Campuran PCR.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Syarat Ideal Sikat Gigi.....	6
Gambar 2. Metode Horizontal.....	7
Gambar 3. Metode <i>Roll</i>	7
Gambar 4. Metode Vertikal.....	8
Gambar 5. Metode <i>Bass</i>	9
Gambar 6. Metode Sirkuler.....	9
Gambar 7. Modifikasi <i>Bass</i>	10
Gambar 8. Metode Stillman	11
Gambar 9. <i>Streptococcus mutans</i>	14
Gambar 10. <i>Candida albican</i>	15
Gambar 11. <i>Pseudomonas auregeunosa</i>	16
Gambar 12. <i>Lactobacillus, spp</i>	16
Gambar 13. Proses PCR	20
Gambar 14. Pippetor	28
Gambar 15. Pipet tip	28
Gambar 16. <i>Freezer</i>	29
Gambar 17. Alat <i>vortex</i>	29
Gambar 18. <i>Heatblock</i>	29
Gambar 19. Mesin sentrifugasi	29
Gambar 20. Tabung <i>eppendorf</i>	30
Gambar 21. Sikag gigi	30
Gambar 22. PBS	30
Gambar 23. Pasta gigi	31
Gambar 24. Skor Debris	32
Gambar 25. Skor Kalkulus	33
Gambar 26. Distribusi Frekuensi Identifikasi Jenis Bakteri yang Terkontaminasi pada Sikat Gigi Biasa Selama 1 Bulan.....	41
Gambar 27. Distribusi Frekuensi Identifikasi Jenis Bakteri yang Terkontaminasi pada Sikat Gigi Biasa Selama 2 Bulan.....	42
Gambar 28. Distribusi Frekuensi Identifikasi Jenis Bakteri yang Terkontaminasi pada Sikat Gigi Biasa Selama 3 Bulan.....	42
Gambar 29. Hasil Visualisai dengan PCR (<i>S. mutans</i>)	43
Gambar 25. Hasil Visualisai dengan PCR (<i>P. aeruginosa</i>)	44

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian
- Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 3. Data Hasil Penelitian
- Lampiran 4. Persetujuan Setelah Penjelasan (*Informed consent*)
- Lampiran 5. Lembar Data Sampel Penelitian
- Lampiran 6. Sertifikat Persetujuan Etik
- Lampiran 7. Surat Izin Penelitian
- Lampiran 8. Surat Selesai Penelitian
- Lampiran 9. Lembar Bimbingan

IDENTIFIKASI JENIS MIKROORGANISME YANG TERKONTAMINASI PADA SIKAT GIGI BIASA BERDASARKAN WAKTU PENGGUNAAN

Msy Indri Putri Kh
Program Studi Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Sikat gigi dapat terkontaminasi melalui kontak dengan lingkungan. Kelangsungan hidup mikroorganisme tersebut dipengaruhi oleh waktu penggunaan dan tempat penyimpanan sikat gigi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis kontaminasi bakteri dari sikat gigi biasa berdasarkan waktu penggunaan. Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan desain studi *cohort*. Sampel penelitian ini adalah 24 sikat gigi biasa, yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu, kelompok sikat gigi yang digunakan selama satu bulan, dua bulan, dan tiga bulan serta kelompok kontrol yaitu, sikat gigi yang belum digunakan. Subjek penelitian yang menggunakan sikat gigi adalah mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Sriwijaya dengan skor DMF-T <3,0 dan skor OHIS <1,2. Seluruh sikat gigi yang digunakan subjek disimpan di dalam kamar mandi dengan toilet. Bulu sikat gigi dipotong lalu dilakukan isolasi DNA, kemudian jenis mikroorganisme (*S. mutans*, *C. albicans*, *Lactobacillus spp*, *P. aeruginosa*) dilakukan dengan PCR. Pada kelompok kontrol tidak menunjukkan adanya kontaminasi mikroorganisme. *S. mutans* dan *C. albicans* teridentifikasi pada penggunaan sikat gigi selama satu, dua, dan tiga bulan. *Lactobacillus spp* teridentifikasi pada penggunaan sikat gigi selama dua bulan dan tiga bulan sedangkan *P. aeruginosa* teridentifikasi pada penggunaan sikat gigi selama satu dan dua bulan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan jenis mikroorganisme yang terkontaminasi pada sikat gigi biasa berdasarkan waktu penggunaan.

Kata kunci : mikroorganisme, sikat gigi, waktu penggunaan

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rongga mulut manusia memiliki sekitar 10 miliar bakteri, beberapa bakteri dapat membentuk plak gigi.¹ Plak merupakan salah satu deposit lunak berwarna putih keabu-abuan atau kuning yang melekat erat pada permukaan gigi, plak dapat terbentuk satu atau dua hari tanpa tindakan kebersihan mulut.² Mikroorganisme yang ditemukan pada plak bervariasi pada tiap orang, serta menurut umur plak itu sendiri, plak muda (1-2 hari) sebagian besar terdiri dari bakteri gram negatif yang berbentuk kokus dan batang, organisme biasanya tumbuh pada pelikel mikropolisakarida amorf dengan tebal kurang dari 1 mikron. Pelikel melekat pada email, sementum atau dentin. Setelah 2-4 hari, perubahan jumlah dan tipe mikroorganisme dalam plak, pada hari ke-4 hingga ke-9 ekologi mikroorganisme plak menjadi semakin kompleks dengan bertambahnya jumlah bakteri motil seperti spirilla dan spirochete.³ Plak merupakan penyebab utama berbagai penyakit gigi (seperti karies dan penyakit periodontal).¹ Oleh karena itu, pemeliharaan kebersihan mulut yang baik merupakan faktor penting dalam menjaga kesehatan umum.⁴ Salah satu cara mekanis yang digunakan untuk membersihkan rongga mulut adalah menyikat gigi.⁵

Menyikat gigi memainkan peran penting bagi kebersihan mulut dan dapat menghilangkan plak dengan efektif. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi adanya kontaminasi pada sikat gigi salah satunya yaitu, batas waktu maksimal.

Penggunaan sikat gigi sangat penting diperhatikan, terdapat perbedaan yang besar terhadap kontaminasi bakteri pada sikat gigi yang digunakan selama 1 dan 3 bulan yang disimpan secara terpisah dan digabung dengan sikat gigi lain. Setelah 1 bulan pemakaian mikroorganisme yang ditemukan pada sikat gigi yang disimpan bersama anggota keluarga adalah *Streptococcus mutans*, *Klebsiella*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus spp*, dan *Escherichia coli*.⁴

Sikat gigi steril setelah diproduksi dan kemudian terkontaminasi setelah gosok gigi pertama. Biofilm yang berkembang di sikat gigi setelah digunakan mungkin mengandung berbagai jenis bakteri, virus, dan jamur yang ada di dalam mulut, serta beberapa dari lingkungan, kotak penyimpanan, jari-jari yang terkontaminasi dan kulit komensal.⁶ Sukhabogii *et al* melaporkan bahwa sikat gigi yang disimpan di dalam kamar mandi dengan kloset memiliki kontaminasi yang paling tinggi jika dibandingkan dengan sikat gigi yang disimpan di luar kamar mandi, dan di dalam kamar mandi tanpa kloset, namun kontaminasi bakteri akan berkurang apabila sikat gigi dibilas dengan 0,2% *chlorhexidine* selama 20 detik.⁷

Sikat gigi berfungsi sebagai reservoir bagi mikroorganisme dan dapat memainkan peran utama dalam penularan penyakit pada manusia. Sikat gigi yang terkontaminasi dengan jumlah bakteri yang tinggi dapat menyebabkan kemungkinan infeksi konstan yang merupakan faktor resiko untuk penyakit periodontal.⁸ Sikat gigi akan terkontaminasi bakteri selama penggunaan, dan jumlah bakteri akan meningkat selama penggunaan berulang.^{9,10}

Sikat gigi memainkan peran penting dalam kebersihan mulut dengan pencegahan akumulasi plak, namun hal itu sendiri dapat menyebabkan penyakit gigi serta penyakit sistemik lainnya. *American Dental Association* (ADA) pada tahun 1996 telah merekomendasikan untuk mengganti sikat gigi setelah setiap 3-4 bulan berdasarkan kerusakan bulu sikat. Waktu penggunaan rata-rata sikat gigi manual adalah sekitar 3 bulan, namun tidak diberikan perhatian khusus pada kontaminasi mikroorganisme saat merekomendasikan frekuensi untuk mengganti sikat gigi.¹¹ Berdasarkan latar belakang tersebut, bahwa waktu penggunaan sikat gigi dapat mempengaruhi kontaminasi bakteri pada sikat gigi. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis bakteri yang terkontaminasi berdasarkan waktu penggunaan pada sikat gigi biasa.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh waktu penggunaan terhadap jenis bakteri yang terkontaminasi pada sikat gigi biasa?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui identifikasi jenis kontaminasi bakteri dari sikat gigi biasa selama penggunaan sehari-hari (setelah 1, 2 dan 3 bulan) dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Sebagai informasi dan pengetahuan ilmiah bagi ilmu kedokteran, khususnya dalam bidang kesehatan gigi dan mulut tentang jenis mikroorganisme yang berperan pada rongga mulut.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengedukasi masyarakat tentang kapan waktu yang paling tepat untuk mengganti sikat gigi mereka dan bagaimana cara penyimpanan sikat gigi yang benar untuk mengurangi terjadinya kontaminasi.

Daftar Pustaka

1. Lee SG, Kang BR, Kim HS, Park HH, Park HR, Yoon SK, Nam SH. Changes in the number of bacteria in a toothbrush according to the toothbrush management method. *Biomedical Research*. 2017;28(16):7306-10.
2. Sari DN, Cholil, Sukmana BI. Perbandingan efektivitas obat kumur bebas alkohol yang mengandung cetethylpridium chloride dengan khlohexidine terhadap penurunan plak. *J Ked Gigi*. 2014;2(11):179-83.
3. Putri MH, Herijulianti E, Nurjannah N. Ilmu pencegahan penyakit jaringan keras dan jaringan pendukung gigi. Jakarta: EGC; 2011. p. 53.
4. Raiyani CM, Arora R, Bhayya DP, Dogra S, Katageri AA, Singh V. Assessment of microbial contamination on twice a day used toothbrush head after 1 month and 3 month: An in vitro study. *J Nat Sci*. 2015;6(1):44-8.
5. Samuel O, Ifeanyi O. Bacterial contamination of used manual toothbrush obtained from some students of Nnamdi Azikiwe University Awka, Nigeria. *J of Microbiology Research*. 2015;3(4):56-9.
6. Pesevska S, Ivanoski K, Mindova S, Kaftandzieva A, Ristoska S, Stefanovska E, et al. Bacterial contamination of the toothbrushes. *J of Int Dental and Medical Research*. 2016;9(1):6-12.
7. Sukhabogii JR, Chandrashekar BR, Haritha N, Kumar GS, Ramana IV, Lakshmi LY, et al. Microbial contamination of tooth brushes stored in different settings before and after didinfection with chlorhexidine-a comparative study. *J e-Biomedik*. 2017;5(2):486-92.
8. Shusheela P, Radha R. Studies on the micro-biological contamination of toothbrushes and importance of decontamination using disinfectants. *J World Pharm Medical Research*. 2016;2(6):201-7.
9. Kalati FA, Nozratzahi T, Farhad Mollashahi L, Idanlo MA, Bameri Z. Evaluation of relationship between toothbrush keeping place and its microbial content. *J of Dental Research*. 2014;3(2):26-31.
10. Morris DW, Goldschmidt M, Keene H, Cron SG. Microbial contamination of power toothbrushes: a comparison of solid-head versus hollow head designs. *J Dental Hygiene*. 2014;88(4):237-42.
11. Alkhatheri B, Alabasi D, Alkufairi G, Abdelazim D. Microbial contamination of toothbrush in relation to the their storage place. *J App Dental Medical Sci*. 2017;3(4):1-5.
12. Kidd EAM. *Essentials of dental caries* 3rd Ed. New York:Oxford.2005.
13. Aaron B. Improved plaque dental efficacy with a new manual toothbrush. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(4):1-8.
14. Haryanti DD, Adhani R, Aspriyanto D, Dewi IR. Efektivitas menyikat gigi metode horizontal vertikal dan roll terhadap penurunan plak pada anak usia 9-11 tahun. *J Kedokteran Gigi*. 2014;2(2):150-4.
15. Chaerita M. *Kiat merawat gigi anak*. Jakarta:Elex Media Komputino.2005.

16. Weijden VD. Relationship between the plaque removal efficacy of a manual toothbrush and brushing force. *J Clin Periodontol*. 2008;25(5):413-6.
17. Mosby. Mosby's dental dictionary. USA: Mosby Elsevier. 2008.
18. Baruah K, Thumpala VJ, Khetani P, Baruah Q, Tiwari RV, Dixit H. A review on toothbrushes and tooth brushing method. *Int J Pharm Sci Invent*. 2017;6(5):29-38.
19. Newman MG. Carranza's clinical periodontology 11th Ed. California: Elsevier. 2012. p. 239-45, 452-60.
20. Herbert F, Wolf, Thomas M, Hassel. Periodontology. New York: Thieme. 2011. p. 228.
21. Anitasari S, Rahayu EN. Hubungan frekuensi menyikat gigi dengan tingkat kebersihan gigi dan mulut siswa sekolah dasar negeri di kecamatan Palaran kotamadya Samarinda Provinsi Kalimantan Timur. *J Kedokteran Gigi*. 2005;38(2):88-90.
22. Harti AS. Dasar-dasar mikrobiologi kesehatan. Yogyakarta: Nuha medika. 2012.
23. Frazelle MR, Munro CL. Toothbrush contamination: a review literature. *Nursing Research and Practice*. 2012;2012:1-6.
24. Orogu JO, Ehiwario CL. Comparative study of bacteriological examination of daily use toothbrushes stored in the bathroom and room. *J Sci Research*. 2016;4(2):37-40.
25. Mehta A, Sequeira S, Bhat G. Bacterial contamination and decontamination of tooth brushes after use. *The New York State Dental Journal*. 2007;73(3):20-2.
26. Nursidika P, Patricia GN, Linda AL. Gambaran bakteri kontaminasi pada sikat gigi. *J of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. 2018;2(1):33-50.
27. Patil S, Rao RS, Sanketh DS. Oral microbial flora in health. *World Journal Of Dentistry*. 2013;4(4):262-6.
28. Leboffe JM, Pierce EB. A photographic atlas for the microbiology 4th Ed. USA: Morthon Publishing. 2011. p. 183-4, 154-5.
29. Sylvania DA, Gultom FP, Bachtiar BM. Korelasi kuantitas *streptococcus mutans* pada plak lidah dan saliva dengan resiko karies tinggi. 2014:1-19.
30. Rieuwpassa IE, Hamrun N, Lukman SR, Reski YS, Ramadhani S. Ekstrak kaktus pir berduri menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *S. mutans*, dan *C. albicans*. *Dentofasial*. 2013;12(3):139-43.
31. Caldorene RA. *Candida and candidiasis* ASM press. Washington DC. p. 3-6.
32. Muhawati VK. Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. *J Ked Syiah Kuala*. 2016;16(1):1-11.
33. Jawetz E. Mikrobiologi kedokteran edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2005. p. 214.
34. Putri AA, Rasyid R, Rahmatini. Perbedaan sensitivitas kuman *Pseudomonas aeruginosa* penyebab infeksi nasokomial terhadap beberapa antibiotika generic dan paten. *J Kesehatan Andalas*. 2014;3(3):327-31.

35. Surinder K. Textbook of microbiology. New Delhi:Medical Publishers Inc. 2012. p. 304-15.
36. Oh JH, Lee MR, Seo JH, Chang YS. Microorganism according to storage method of the toothbrush. Int J Clin Prev Dent. 2013;9(4):193-7.
37. Joshi M, Deshpande JD. Polymerase chain reaction: methods principles and application. Int J Biomed Research. 2010;1(5):81-7.
38. Intergrated DNA Technologies. The Polymerase chain reaction. USA:Coralville. 2011.
39. Mohammad S, Birhan G, Admasu B, Shite A, Yeneneh H. Review on polymerase chain reaction and its diagnostic merit over conventional techniques in animal disease. African J Of Basic Appl Sci. 2015;7(5):262-81.
40. Garibyan L, Avasha N. Research technique made simple: polymerase chain reaction (PCR). J Invest Dermatol. 2013;133(3):1-6.
41. Sudjadi DRS. Bioteknologi kesehatan. Yogyakarta:Kaninus. 2008. p. 94.
42. Adrianto A. Buku ajar biologi sel dan molekuler. Yogyakarta: DEEPUBLISH. 2017. p. 132-33.
43. Moye Z, Zeng L, Burne RA. Fueling the caries process: carbohydrate metabolism and gene regulation by *Streptococcus mutans*. J of Oral Microbiology. 2014;6-24878.
44. Naik R, Mujib A, Telagi N, Spoorthi BR. Contaminated tooth brushes-potential threat to oral and general health. J Of Family Med and Primary Care. 2016;4(3):444-8.
45. Gautam B, Pokhrel S, Aryal S, Basnet A. Efficacy of toothpaste in reducing micro-flora isolated from toothbrush. J of Sci, Engineering and Technology. 2017;13(II):71-8.
46. Saravia ME, Filho PN, Da Silva RA, Faria G, Rossi MA, Ito IY. Viability of *Streptococcus mutans* toothbrush bristles. J Of Dent For Children. 2008;75(1):29-32.
47. Mobin M, Borba CDM, Filho CAM, Tapety FI, Noleto IDM, Teles JBM. Analysis of fungal contamination and disinfection of toothbrushes. Acta Odontol. 2011;24(1):86-91.
48. Contreras A, Arce R, Botero JE, Jaramillo A, Betancourt M. Toothbrush contamination in family members. Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral. 2010;3:24-6.
49. Karibasappa GN, Nagesh L, Bishwokarma S. Assessment of microbial contamination of toothbrush head: an in vitro study. Indian J Of Dent Research. 2011;22(1):2
50. Almutairi T, Aldossary A, Alshammari A, Alwakeel S. Investigation into the microbial contamination of toothbrushes isolated from Riyadh, Saudi Arabia. Adv Environ Biol. 2014; 8(7): 2231-35.
51. Alvinash J, Singh A, Singh DK. Powered toothbrush vs manual toothbrush: generation X of mechanical plaque control. Int J of Prev and Clinical Dent Research. 2017;4(2):1-11.

52. Tomar P. Evaluating sanitization of toothbrushes using ultra violet rays and 0,2% chlorhexidine solution: A comparative clinical study. J of Basic and Clinical Pharmacy. 2015;6(1):12-8.
53. Anand PJS, Athira S, Chandramohan S, Ranjith K, Raj VV, Manjula VD. Comparison of efficacy of herbal disinfectants with chlorhexidine mouthwash on decontamination of toothbrushes: An experimental trial. Dept Of Public Health Dent. 2016;6(1):22-7.

