

Formulation "Chitosan Solution" As preparations Alternative Dental Plaque Inhibiting Growth And Saliva (Trial By In Vivo)

Formulasi "Chitosan Solution" Sebagai Alternatif Sediaan Penghambat Pertumbuhan Plak Gigi Dan Saliva (Uji Coba Secara *In Vivo*)

Tri Wiyatini
Endah Aryati Eko Ningtyas
Drg. Aning Susilowati

Jurusan Keperawatan gigi Poltekkes Kemenkes Semarang
Jl. Tirta Agung, Pedalangan, Banyumanik, Semarang
E-mail: triwiyatini@gmail.com

Abstract

Aim of this research to formulate mouth wash contain chitosan and its influences on plaque index and pH saliva after rinsing. Chitosan mouth wash formulation is by dissolving chitosan powder on aquadest and added chemical agent as flavour, coloring and solvent. Research subyek was 10 students. Rinsing was done every day at morning and night after tooth brushing for 5 days. Plaque index and pH saliva measured first day before rinsing and last day. Research result shown significantly differences on plaque index and pH saliva before and after rinsing with chitosan mouth wash ($p \leq 0,05$). Meanwhile there was no significantly differences after rinsing with control group. Raise of pH saliva after rinsing with chitosan mouth wash is higher compared to control group on to bacterial agent.

Key Word: Chitosan mouth wash, plaque index, pH saliva

Kata Kunci: Chitosan mencuci mulut, indeks plak, pH saliva

1. Pendahuluan

Karies adalah penyakit yang melibatkan banyak faktor, diantaranya adalah adanya bakteri *Streptococcus Mutans* (SM) yang jika berinteraksi dengan karobihidrat menyebabkan turunnya pH dalam lingkungan rongga mulut dan meningkatkan proses demineralisasi (Tao dkk, 2011). Dikarenakan masih tingginya angka prevalensi karies di Indonesia, maka upaya untuk mengurangi kejadian karies masih terus diupayakan. Salah satu caranya adalah dengan memutus mata rantai faktor penyebab karies dalam hal

ini adalah menghambat pertumbuhan bakteri SM.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan penggunaan *mouth wash* yang dapat diaplikasikan sehari-hari sebagai bagian dari upaya *personal dental hygiene*. Sediaan obat kumur baik buatan pabrik dengan bahan kimia (misal *chlorhexidine*, *betadine* dll) serta herbal (misal *aloy vera*, sirih) banyak tersedia dan mudah didapat masyarakat, tetapi bahan kimia dapat memberikan efek samping. Penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lama ternyata dapat menimbulkan pewarnaan pada gigi (*dental staining*) (Albandar dkk, 1994),

serta penggunaan sediaan herbal di masyarakat terkadang kesulitan dalam mencari tanaman yang dianjurkan.

Suatu alternatif bahan yang berasal dari pemanfaatan limbah yang ada di masyarakat dapat dijadikan pertimbangan. Agusnar (2009) melaporkan 125.596 ton di ekspor dan dapat menghasilkan limbah berupa kepala, cangkang, ekor dan kaki sekitar 35%-50% dari berat awal. Kitosan adalah agen hemostatik baru yang dihasilkan dari destilasi kitin. Kitin banyak terdapat dalam cangkang luar hewan golongan *crustaceae* terutama udang, kepiting dan sotong/cumi-cumi (Souza dkk, 2011). Pemanfaatan limbah ini pertama kali dilakukan oleh Henri Braconnot dari Perancis pada tahun 1811 yang menemukan bahwa ada kandungan *chitosan* yang memberikan banyak manfaat bagi kesehatan (Benedict, 2012). Dalam bidang kedokteran gigi penelitian tentang kitosan terus dilakukan dan masih dibutuhkan inovasi-inovasi untuk pengembangannya. Salah satu manfaat kitosan dalam bidang kedokteran gigi adalah dalam proses penghambatan terjadinya karies. Mekanisme aksi kitosan menurut Avadi dkk (2004) adalah jika amino yang ada dalam kitosan berinteraksi dengan amino sel bakteri akan mengakibatkan bakteri mengalami aglutinasi sehingga terhambat pertumbuhannya. Kitosan terbukti aman digunakan dengan biokompatibilitas yang baik (Kong dkk, 2010).

2. Metode

Rancangan penelitian adalah experimental murni dengan *cross over research design*. Kelompok sampel mendapat perlakuan (berkumur dengan obat kumur kitosan) dan kontrol secara

single blind method dalam kurun waktu 10 (sepuluh) hari secara bergantian diselingi periode *washing out* selama 5 hari. Pengukuran skor plak dan pH saliva dilakukan pada hari 1 dan ke 10 pada masing-masing kelompok.

Pengambilan data

- a. Seleksi subyek penelitian
Menentukan sepuluh subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi.
- b. Hari pertama subyek penelitian diberi pengarahan tentang jalannya penelitian termasuk cara berkumur dan penanda tangan inform konsen. Subyek diminta datang hari berikutnya dengan menggosok gigi dahulu.
- c. Pada saat subyek datang kemudian dilakukan pengambilan pH saliva dan plak skor awal. Setelah itu subyek diberi satu buah botol obat kumur secara random baik obat kumur yang mengandung kitosan atau tidak. Kemudian dibawa pulang dan diinstruksikan untuk berkumur setiap hari pagi hari dan malam hari setelah menggosok gigi. Subyek diminta untuk melakukan *personal hygiene* dan diet seperti biasanya.
- d. Pada hari ke 11, subyek diminta datang lagi kemudian dilakukan pengambilan saliva dan pengukuran skor plak periode I
- e. Tahap selanjutnya adalah 5 hari periode *washing out*, yaitu periode tanpa berkumur²
- f. Setelah itu subyek diberi lagi obat kumur dilakukan pengukuran pH saliva dan pengukuran skor plak awal.
- g. Instruksi sama seperti periode I dan setelah hari ke 10 diminta datang lagi untuk dilakukan pengukuran pH saliva dan plak skor.

Pengukuran plak skor

Pengukuran plak skor menggunakan Indeks Quigley and Hein (QHI). Pengukuran dilakukan pada dua permukaan (bukal dan lingual) semua gigi kecuali Molar 3. Sebelumnya diolesi disclosing solution dahulu, kemudian berkumur dan diamati skor plak. Jumlah semua skor kemudian dibagi dengan jumlah gigi dikalikan 2.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hasil pengukuran plak indeks dan pH saliva sebelum dan setelah berkumur-kumur dengan obat kumur khitosan dan kontrol adalah sbb:

Tabel 1. Keadaan pH saliva sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan

No subyek	pH saliva		Keterangan
	awal	akhir	
1	6.8	7	pH saliva naik sebesar 0.2
2	7	7.2	pH saliva naik sebesar 0.2
3	6.9	7.1	pH saliva naik sebesar 0.2
4	7	7.2	pH saliva naik sebesar 0.2
5	6.9	7	pH saliva naik sebesar 0.1
6	6.7	7.2	pH saliva naik sebesar 0.5
7	6.8	7	pH saliva naik sebesar 0.2
8	7	7	pH saliva tetap
9	6.6	7.1	pH saliva naik sebesar 0.5
10	6.9	7	pH saliva naik sebesar 0.1

Pada tabel diatas terlihat bahwa pH saliva awal subyek relatif hampir sama dengan rentang variasi dari 6,6-7. Hampir semua subyek mengalami kenaikan pH saliva (90%), hanya 1 subyek yang tetap pH saliva nya.

Tabel 2. Keadaan pH saliva sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan

No subyek	pH saliva		Keterangan
	awal	akhir	
1	6.9	6.8	pH saliva turun sebesar 0.1
2	6.8	6.8	pH saliva tetap
3	6.8	6.7	pH saliva turun sebesar 0.1
4	7	7	pH saliva tetap
5	6.8	6.8	pH saliva tetap
6	6.5	6.8	pH saliva naik sebesar 0.3
7	7	6.8	pH saliva turun sebesar 0.2
8	6.8	6.8	pH saliva tetap
9	6.5	6.5	pH saliva tetap
10	6.7	6.5	pH saliva turun sebesar 0.2

Keadaan subyek penelitian yang berkumur dengan obat kumur yang tidak mengandung khitosan adalah pada 40% subyek pH saliva turun, 50 % subyek pH saliva tetap sedangkan ada 1 subyek yang pH saliva nya naik.

Tabel 3. Keadaan plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan

No subyek	Plak indeks		Keterangan
	awal	akhir	
1	1.14	1.46	Plak indeks naik sebesar 0.32
2	1.44	1.25	Plak indeks turun sebesar 0.21
3	2.79	0.93	Plak indeks turun sebesar 1.86
4	2.79	1.1	Plak indeks turun sebesar 1.69
5	2.88	1.71	Plak indeks turun sebesar 1.17
6	2.03	1.21	Plak indeks turun sebesar 0.82
7	1.96	1.32	Plak indeks turun sebesar 0.64
8	1.5	1	Plak indeks turun sebesar 0.5
9	2.07	1.21	Plak indeks turun sebesar 0.86
10	1.8	1.5	Plak indeks turun sebesar 0.3

Keadaan plak indeks pada semua subyek sebelum dilakukan penelitian

menunjukkan rentang variasi dari 1,1-2,88. Subyek penelitian setelah berkumur dengan obat kumur yang berisi khitosan, keadaan plak nya rata-rata turun yaitu 9 dari 10 subyek penelitian mengalami hal ini, hanya ada satu subyek yang keadaan indeks plak nya naik. Sedangkan pada tabel 4 terlihat subyek yang berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan menunjukkan hasil plak indeks 7 subyek berkurang sedangkan 3 subyek plak indeks nya naik.

Tabel 4. Keadaan plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan

No subyek	Plak indeks		Keterangan
	awal	akhir	
1	1.07	2.14	Plak indeks naik sebesar 1.07
2	3.4	2.96	Plak indeks turun sebesar 0.44
3	2.07	2	Plak indeks turun sebesar 0.07
4	3.07	2.7	Plak indeks turun sebesar 0.37
5	1.57	1.56	Plak indeks turun sebesar 0.01
6	1.43	1.32	Plak indeks turun sebesar 0.11
7	1.64	1.79	Plak indeks naik sebesar 0.15
8	1.14	1.32	Plak indeks naik sebesar 0.18
9	1.86	1.68	Plak indeks turun sebesar 0.18
10	2.03	1.5	Plak indeks turun sebesar 0.53

1. Analisa data secara analitik

Tabel 5. Rerata dan Simpangan Baku (SB) pH saliva dan plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan dan kontrol

Variabel	Obat kumur khitosan			Obat kumur kontrol		
	sebelum	setelah	selisih	sebelum	setelah	selisih
pH saliva	6,86 ± 0,13	7,08 ± 0,09	0,2 ± 0,18	6,78 ± 0,18	6,75 ± 0,15	0,03 ± 0,14
Plak indeks	2,04 ± 0,61	1,27 ± 0,24	0,77 ± 0,67	1,93 ± 0,77	1,90 ± 0,56	0,03 ± 0,45

Tabel 5 menunjukkan pH saliva sebelum berkumur dengan obat kumur khitosan rata-rata bersifat basa yaitu 6,68 dan setelah berkumur selama 5 (lima) hari rerata pH saliva naik menjadi 7,08. Sedangkan keadaan sebaliknya terjadi pada subyek yang berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan, rerata pH awal adalah 6,78 kemudian pH saliva akan turun menjadi 6,65 setelah berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan.

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan pH saliva dan plak indeks sebelum dan setelah perlakuan berkumur-kumur maka dilakukan uji *paired t test* dengan hasil terlihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji analitik *paired test* perbedaan pH saliva dan plak indeks sebelum dan setelah berkumur-kumur

Variabel	SE rata-rata	angka t	Kemaknaan
pH saliva sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan	0,05	- 4,296*	0,002
pH saliva sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan	0,044	-0,07	0,52
Plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan	0,211	3,639*	0,005
Plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan	0,14	0,216	0,83

*bermakna dengan $p < 0,05$

Berdasarkan tabel 6 diatas diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna pH saliva serta plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan ($p < 0,05$). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pH saliva serta plak indeks sebelum dan

setelah berkumur dengan obat kumur tanpa khitosan.

Tabel 7. Hasil uji analitik *independent t test* perbedaan pH saliva dan plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan dan kontrol

Variabel	Beda rerata	Skor t	Kemaknaan
pH saliva	0,23	3,21*	0,005
Plak indeks	-0,74	-2,9*	0,01

Berdasarkan hasil uji *independent t test* untuk melihat perbedaan pH saliva antara yang berkumur dengan khitosan dan kontrol menunjukkan hasil adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Demikian juga dengan perbedaan plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur yang berbeda menunjukkan hasil adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Hasil wawancara organoleptik obat kumur

Tabel 8. Hasil organoleptik persepsi subyek terhadap ras, warna dan bau obat kumur khitosan

Obat kumur	Organoleptik			
	Rasa	Warna	bau	Lain2
Khitosan	1. Sepet 2. Pahit 3. Tidak suka rasanya lebih suka rasa mint (seger)	1. Tidak suka kuning karena seperti minyak goreng 2. Lebih suka warna hijau atau merah	1. Menyengat 2. Tidak enak 3. Ada bau aneh 4. Amis 5. biasa-biasa saja	1. Mau mutah 2. Eneg 3. Ada yang menempe l pada gigi 4. Keset
Kontrol	1. Adanya bilang sepet tapi mayoritas	1. Tidak suka kuning karena seperti minyak goreng	1. Tidak ada bau spesifik 2. bau wangi vanilla	1. Adanya keset tapi sebagian besar

menyatakan biasa	2. Lebih suka warna hijau atau merah	menyatakan tidak ada yg menempel di gigi
2. Lebih memilih rasa mint		

Pembahasan

Penelitian ini adalah penelitian experimental dengan subyek pada manusia sehingga jumlah sampel sepuluh (10) per kelompok adalah memadai. *Cross over* dilakukan untuk menghindari terjadinya kesalahan yang biasa terjadi pada penelitian yang dilakukan pada manusia (*in vivo*) dikarenakan adanya variasi sistemik serta untuk meminimalisir keberagaman yang sering terjadi pada penelitian tentang bakteri dalam rongga mulut (Fine dkk, 2007).

Hampir semua sampel yang melakukan kegiatan berkumur dengan obat kumur khitosan menunjukkan kenaikan pH saliva, hanya satu yang tidak mengalami kenaikan pH saliva. Hal ini menunjukkan bahwa khitosan mampu menyebabkan terjadinya kenaikan pH saliva. Saliva mempunyai peranan penting dalam mempertahankan keadaan seimbang dalam rongga mulut. Fungsi saliva diantaranya adalah sebagai pelumas dan pelindung jaringan lunak mulut; mempertahankan kesehatan gigi; aktivitas anti bakteri; membantu pengunyahan dan penelanan makanan. Kandungan khitosan diantaranya adalah protein yang mengandung bikarbonat. Bikarbonat mempunyai peran dalam pengaturan pengikatan bakteri pada plak dan peningkatan pH saliva (Hurlbutt, 2010).

pH saliva pada sampel yang berkumur dengan kitosan rata-rata naik sebesar 0,2, sedangkan yang berkumur

tanpa kitosan pH saliva turun sebesar 0,03 (tabel 5). Uji *independent t* juga menghasilkan adanya perbedaan yang signifikan pH saliva antara yang berkumur dengan khitosan dan tanpa khitosan. Hal ini menunjukkan adanya peranan khitosan dalam mempengaruhi keadaan asam basa dari saliva. Khitosan bisa menyebabkan peningkatan kadar bikarbonat dalam saliva, sebagai konsekuensinya keadaan asam basa saliva akan meningkat (Humphrey dan Williamson, 2001).

Keadaan plak indeks pada sampel setelah berkumur dengan obat kumur khitosan mengalami penurunan rata-rata 0,77. Pada semua subyek plak indeks turun, seperti terlihat pada tabel 3 dan 5. Keadaan ini menandakan bahwa obat kumur yang mengandung khitosan menyebabkan plak indeks berkurang. Plak adalah lapisan bening tipis yang berikatan dengan email gigi dan mengandung bakteri. Indeks plak dapat dihitung berdasarkan kuantitas plak yang ada pada permukaan gigi. Plak akan terlihat jika permukaan gigi diolesi *disclosing solution*. Pada saat plak gigi berkontak dengan larutan obat kumur yang berisi khitosan, maka terjadi interaksi antara bakteri dengan khitosan yang berakibat pada penurunan jumlah bakteri yang melekat pada gigi.

Mekanisme aksi dari khitosan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri melalui dua cara 1) mengikat dinding sel bakteri sehingga akan mengganggu permeabilitas sel sehingga akan menyebabkan kematiannya, 2) khitosan mengeluarkan gugus amino yang akan mengakibatkan timbulnya kebocoran konstituen intraseluler sehingga bakteri akan mati (Chung dkk, 2004). Potensi

kitosan sebagai antibakteri didasarkan pada interaksi awal antara khitosan dan bakteri yang bersifat elektrostatis. Khitosan memiliki gugus fungsional amina (-NH₂) yang bermuatan positif sangat kuat, sehingga dapat berikatan dengan dinding sel bakteri yang relatif bermuatan negatif. Ikatan ini mungkin terjadi pada situs elektronegatif di permukaan dinding sel bakteri.

Pada subyek yang berkumur tanpa khitosan, plak indeks nya bervariasi ada yang turun dan ada yang naik, tetapi rata-rata mengalami penurunan plak indeks sebesar 0,03. Keadaan ini dimungkinkan karena gerakan berkumur-kumur akan mengakibatkan plak berkurang. Plak gigi akan berkurang dengan cara menggosok gigi dan berkumur-kumur. Berkumur-kumur membuat gerakan mekanis sehingga tekanan air akan mengenai permukaan gigi dan akan menyebabkan bakteri yang melekat akan lepas (luruh), seperti yang terjadi pada penelitian Fine dkk (2007). Subyek yang berkumur tanpa kandungan minyak esensial juga plak indeks nya berkurang karena gerakan mekanis berkumur.

Untuk warna obat kumur, mayoritas sampel tidak menginginkan warna kuning karena memberi kesan seperti berkumur minyak goreng. Sampel lebih suka warna merah atau hijau karena terkesan lebih menarik. Tentang bau pada obat kumur khitosan, sampel mengatakan bervariasi ada yang bilang bau menyengat, aneh, amis dan ada yang mengatakan baunya biasa-biasa saja. Sampel yang mengatakan bau amis kemungkinan karena khitosan adalah ekstrak dari cangkang udang yang member aroma amis. Walaupun bervariasi perasaan sampel terhadap rasa, warna, bau obat kumur khitosan dan kontrol, tetapi secara umum sampel dapat

menerima obat kumur yang digunakan dalam penelitian ini. Bahkan mereka menyatakan senang karena setelah berkumur, mereka mengatakan gigi menjadi keset sehingga terasa bersih, tidak ada yang melekat pada gigi.

Kelemahan penelitian ini adalah tidak dikendalikannya jenis makanan yang dikonsumsi oleh sampel penelitian sebelum pengambilan data sehingga akan mempengaruhi pH saliva.

4. Simpulan dan Saran

Simpulan

1. Rata-rata skor plak indeks sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan adalah 2,04 dan 1,27 sedangkan pada obat kumur tanpa khitosan 1,93 dan 1,90.
2. Penurunan skor plak berkumur dengan obat kumur khitosan lebih besar dibandingkan tanpa khitosan yaitu 0,77 dan 0,03.
3. Rata-rata pH saliva sebelum dan setelah berkumur dengan obat kumur khitosan adalah 6,56 dan 7,08 sedangkan pada obat kumur tanpa khitosan adalah 6,78 dan 6,75.
4. Peningkatan pH saliva berkumur dengan obat kumur khitosan lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa khitosan yaitu 0,2 dan 0,03.

Saran

Dilakukan penelitian lanjutan tentang pembuatan obat kumur dengan berbagai variasi rasa, warna dan konsentrasi khitosan. Penelitian lanjutan dilakukan dengan jumlah sampel diperbesar dengan variasi keadaan saliva dan keadaan karies.

5. Ucapan Terimakasih

Ucapan banyak terimakasih disampaikan atas kesempatan yang diberikan untuk mendapatkan Dana Risbinakes DIPA Politeknik Kesehatan Kemenkes Semarang, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

6. Daftar Pustaka

- Agusnar H. 2009. Pidato Pengukuhan Guru Besar, USU, Kitosan sebagai bahan bioimmunizer tanaman untuk meningkatkan produksi hasil pertanian yang ramah lingkungan)
- Albandar JM, Gjermo P, Preus HR. 1994. Chlorhexidine use after two decades of over-the-counter availability. *J Periodontol.*, 65(2):109-12
- AmerongenVN, Bolscher JG, Veerman EC. 2004. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology?, *Caries Research*, 38 (3): 247-53
- Avadi, MR., Sadeghi, AMM., Tahzibi, A., Bayati, KH., Pouladzadeh, M., Zohuriaan-Mehr, MJ. 2004. Diethylmethyl chitosan as a antimicrobial agent: synthesis, characterization and antibacterial effects. *Europ. Pol. J.*, 40:1355-1362.
- Benedict K. 2012. the promise of a pill, http://www.vanderbilt.edu/ans/psychology/health_psychology/chitosan1.htm
- Chung YC, Su YP, Chen CC, Jia G, Wang HL, Wu JCG, Lin JG. 2004. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall, *Acta Pharmacol Sin*, 25 (7): 932-36
- Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Goldsmith D, Charles CH, Lisante TA, Lynch MC. 2007. Efek obat kumur anti mikroba yang mengandung minyak essential terhadap bakteri plak spesifik secara in vitro, *Journal of Clinical Periodontal* ; 34: 652-657
- Humphrey SJ, Williamson RT. 2001. A review of saliva: Normal

- composition, f low, and function. *J Prosth Dent.*; 85(2):162-69.
- Hurlbutt M, Novy B, Young D. 2010. Dental caries: A-pH mediated disease, *CDHA Journal-Winter*, 25 (1): 9-15
- Julica MP. 2010. pengaruh stimulasi berkumur, mengunyah dan asam sitrun terhadap sekresi dan pH saliva, laporan tertulis. FKG UGM
- Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International J. Food Microbiology*, 144: 51-63
- Kurita K. 1998. Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polym Degrad Stabil* ; 59: 117-20.
- Souza MM, de Carvalho G, Thayza C. Stamford M, Emerson Pereira dos Santos, EP, Tenório P, Sampaio F. 2011. Chitosan as an oral antimicrobial agent <http://www.formatex.info/microbiology3/book/542-550.pdf>
- Murugan R, Ramakrishna S. 2004. Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nano hydroxyapatite. *Biomater*, 25: 3829-35
- Newman MG, Takei H, Carranza NT. 2002. Carranza's Clinical Periodontology, <http://http://www.amazon.ca/Carranzas-Clinical-Periodontology-Michael-Newman>
- Recinos G, Inaba K, Dubose J, Demetriades D, Rhee P. 2008. Local and systemic hemostatics in trauma: review, *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 14(3): 175-81
- Rudyanto D. 2010. perbedaan pemberian larutan xylitol dan sorbitol terhadap penurunan pH saliva pada penderita karies rendah (Eksperimental Laboratoris), library@lib.unair.ac.id
- Sawaguchi N, Majima T, Funakoshi T, Shimode K, Harada K, Minami A, Nishimura S. 2011. Effect of cyclic three-dimensional strain on cell proliferation and collagen synthesis of fibroblast-seeded chitosan-hyaluronan hybrid polymer fiber, *J Orthop Sci*, 15(4): 569-77
- Seno H, Sibashaki K, Matsukubo T, Takaesu Y. 2003. Effect of Chitosan rinsing on reduction of dental plaque formation, *Bull Tokyo Dental Coll*, 44 (10): 9-16
- Senel S, İkinci G, Kas S, Yousefirad A, Sargon M, Hincal AA. 2000. Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery. *Int.J. Pharm.*, 5(2):197-203.
- Stamford- Arnaud TM, Barros- Neto B, Diniz FB. 2010. Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: an in vitro evaluation, *J. Dent.* 38: 848-52
- Tao R, Tong Z, Lin Y, Wang W, Kuang R, Wang P, Tian Y, Ni L, Xue Y. 2011. Antimicrobial and antibiofilm activity of pleurocidin, against cariogenic Microorganisms. *Peptides*.
- Tarsi, Muzzarelli, Guzman, Pruzzo. 1997. Inhibition of Streptococcus mutans adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight chitosans, *Oral Microbiol Immunol*, 72: 665-72
- Xia W, Liu P, Zhang J, Chen J. 2011. Biological activities of chitosan and chitoooligosac charides. *Food Hydrocolloids* 25:170-179