

EKSTRAK DAUN SIRIH DAPAT MENCEGAH TERBENTUKNYA DENTAL PLAK DENGAN MENGHAMBATPERKEMBANGAN BAKTERI *Streptococcus mutans*

Oleh :

I Gusti Agung Ayu Dharmawati

Mahasiswa Prodi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Abstrak : Plak disebut sebagai factor utama penyebab karies dan penyakit periodontal, dikarenakan plak mengandung bakteri patogen. Masalah kesehatan gigi dan mulut dapat dicegah dengan antibakteri seperti Klorhexidin untuk mengurangi dan mencegah terbentuknya plak, tetapi memiliki efek samping berupa diskolorasi gigi dan lidah. Oleh karena itu bahan tradisional daun sirih menarik untuk dijadikan pilihan. Menurut Suliantari et al., ekstrak sirih hijau mampu membunuh bakteri *Streptococcus mutans*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui seberapa jauh daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *completely randomized with posttest only control group design*. Kelompok perlakuan penelitian terdiri dari: ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 50%, 75%, 100%, kontrol positif (Chlorhexidin 2%), kontrol negatif (Ethanol 96%) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Data hasil penelitian dianalisis dengan *One Way Anova*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun sirih konsentrasi 50% tidak mempunyai aktivitas antibakteri, konsentrasi 75% dan 100% menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan daya hambat ($p < 0.05$). Disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih mempunyai efek daya hambat sedang terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro. Hasil penelitian ini perlu dilanjutkan dengan uji klinis sebelum dimanfaatkan di masyarakat.

Kata Kunci : Ekstrak Daun Sirih, Daya hambat, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Karies dan penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang banyak diderita oleh masyarakat (Toar dkk., 2013). Penyakit kesehatan gigi dan mulut menduduki urutan pertama dari daftar 10 besar penyakit yang sering dikeluhkan oleh masyarakat Indonesia. Data WHO menunjukkan 60% sampai 90% dialami oleh anak usia sekolah dan 100% ditemukan pada orang dewasa (Ticoalu dkk., 2013). Penyebab karies yang terjadi pada populasi dunia adalah plak yaitu sebesar 75% sampai 90%³. Plak terbentuk dari deposit lunak yang membentuk lapisan biofilm dan melekat erat pada permukaan gigi, gusi serta permukaan keras lainnya di dalam rongga mulut (Toar dkk., 2013).

Dalam penelitian lain plak disebut sebagai factor penyebab utama terjadinya karies dan penyakit periodontal. Terjadinya hal tersebut dikarenakan plak mengandung bakteri patogen (*Streptococcus mutans*) yang produk metaboliknya menempel pada permukaan gigi dan gingiva (Newman dkk., 2011). Plak biasanya terbentuk pada sepertiga permukaan gingival dan pada permukaan gigi yang cacat dan kasar (Megananda dkk., 2009). *Streptococcus mutans* merupakan kelompok dari *Streptococcus viridians*, ciri khas organisme ini adalah sifat hemolitik tetapi dapat juga non hemolitik. *Streptococcus mutans* dapat dibedakan dari *Streptococcus* lainnya di rongga mulut karena kemampuannya untuk

memfermentasi sorbitol dan manitol, serta menghasilkan berbagai enzim dan substansi ekstraseluler. *Streptococcus mutans* mampu mensintesis polisakarida besar seperti mutan, dekstran atau levans dari sukrosa yang merupakan polisakarida yang lengket. Oleh karena kemampuannya ini, bisa mendukung dan menyebabkan bakteri lain menuju ke email gigi, mendukung pertumbuhan bakteri asidurik yang lain dan melarutkan email dan berperan penting pada pembentukan karies gigi (Jawetz dkk., 2008). *Streptococcus mutans* dapat menimbulkan terjadinya karies gigi apabila jumlahnya di dalam saliva mencapai $< 10^5$ untuk *low caries activity* dan $> 10^6$ untuk *high caries activity* (Semaranayake, 2006). Mikroorganisme tersebut memiliki enzim glucosyltransferase yang dapat memetabolisme karbohidrat menjadi asam sehingga menyebabkan penyakit gigi dan mulut (Pintauli dan Hamada, 2008). Karies adalah penyakit pada jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum yang mengalami demineralisasi akibat aktivitas mikroorganisme dalam plak gigi. Penyakit periodontal merupakan penyakit jaringan lunak pendukung gigi disebabkan oleh akumulasi plak gigi karena kebersihan mulut yang buruk (Pintauli dan Hamada, 2008).

Sebagian besar masalah kesehatan gigi dan mulut sebenarnya dapat dicegah. Miller (1989) menyatakan bahwa berdasarkan teori *chemico*

parasitic, karies dapat dicegah dengan antibakteri untuk mengurangi dan mencegah terbentuknya plak. Pencegahan dapat dilakukan dengan menggunakan bahan antibakterial sebagai obat kumur (Megananda dkk., 2009). Penggunaan obat kumur dapat membunuh kuman yang terdapat di daerah sela gigi dan gusi. Obat kumur dapat mengatasi masalah tersebut dengan cara mengontrol terbentuknya dan memperlambat proses maturasi (pematangan) plak gigi yang merupakan proses awal dari penyakit gigi dan mulut (Astoeti, 2010).

Selama 25 tahun klorhexidin digunakan sebagai obat kumur untuk mencegah terbentuknya dental plak dengan efek samping berupa diskolorasi gigi dan lidah, serta gangguan pengecapian setiap kali setelah berkumur (Priyanto, 2010), oleh karena itu bahan tradisional menarik untuk dijadikan pilihan, salah satu bahan yang sudah sering digunakan sejak dahulu yaitu daun sirih hijau.

Salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai obat yang digunakan secara turun-menurun untuk menyembuhkan luka yaitu sirih (*Piper betle L.*). Daun sirih digunakan sebagai obat batuk, obat cacing, dan antiseptik pada luka (Priyono dan Pratiwi, 2009). Menurut Suliantari et al. (2008), ekstrak sirih hijau mampu membunuh bakteri *Streptococcus mutans* dan karena di dalamnya terkandung bahan kimia yang mempunyai aktivitas anti bakteri yaitu: minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin (Putri, 2010). Efek astringent bahan ini, telah diketahui sebagai obat kumur, tidak menimbulkan iritasi selaput lendir rongga mulut (Dian, 2005). Penggunaan sirih sebagai bahan obat mempunyai dasar kuat karena adanya kandungan minyak atsiri yang merupakan komponen fenol alami sehingga berfungsi sebagai antiseptik yang kuat. Sepertiga dari minyak atsiri tersebut terdiri dari fenol dan sebagian besar adalah kavikol. Kavikol inilah yang memiliki daya pembunuh bakteri lima kali lipat dari fenol biasa (Dian, 2005). Daun sirih yang masih muda mengandung enzim diastase, gula, dan minyak atsiri lebih banyak daripada daun yang tua (Putri, 2010). Dari hasil penelitian Kursia et al., (2016) menguji aktivitas antibakteri daun sirih merah menunjukkan daya hambat sedang – kuat terhadap *S. epidermidis* (Damayanti, 2005). Penelitian Abdullah (2010) menggunakan daun sirih hijau sebagai obat kumur pada penderita gingivitis menunjukkan hasil adanya penyembuhan (Kursia dkk., 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas penelitian untuk mengetahui khasiat daun sirih hijau terhadap bakteri penyebab dental *Streptococcus mutans* perlu dilakukan untuk

membuktikan kemampuan antibakteri daun sirih hijau. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui seberapa jauh daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. Dengan mengetahui besarnya daya hambat menunjukkan besarnya aktivitas anti bakteri ekstrak daun sirih hijau.

METODE DAN BAHAN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *completely randomized with posttest only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar. Jumlah sampel penelitian ditentukan dengan rumus Pocock (2008), yaitu sebanyak: tujuh *plate* perberihan *Streptococcus mutans* pada setiap kelompok. Bahan utama penelitian terdiri dari: ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 50%, 75%, 100% serta *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Plate* kemudian dibagi lima kelompok yaitu: satu untuk kontrol negatif (ethanol konsentrasi 96%), kontrol positif (Chlorhexidin 2%). Perlakuan ke dalam *plate difusi disk* dilakukan dengan cara *simple random sampling* dengan menggunakan nomor undian. Data yang dikumpulkan berupa diameter zona bening yang diukur dengan jangka sorong (dalam millimeter). Kekuatan daya hambat bakteri dikategorikan menurut Davis dan Stout (1971) : sangat kuat (zona bening >20mm), kuat (zona bening 10 – 20mm), sedang (zona bening 5 – 10mm), lemah (<5mm) (Dewi, 2010).

Analisis data uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnoff*, uji homogenitas diuji dengan *Levene's test* dengan tingkat kemaknaan 5%. Uji beda rerata antar kelompok dengan *One Way Anova*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Uji normalitas kekuatan daya hambat ekstrak daun sirih hijau.

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih

Kelompok Perlakuan	N	p	Keterangan
Ekstrak Daun Sirih 50%	7	0.000	Tidak Normal
Ekstrak Daun Sirih 75%	7	0.001	Tidak Normal
Ekstrak Daun Sirih 100%	7	0.030	Tidak Normal

Hasil pada tabel 1 menunjukkan hasil uji normalitas dengan *Shapiro Wilk* menunjukkan hasil ekstrak daun sirih 50%, 75% dan 100% berdistribusi tidak normal ($p < 0.05$).

b. Uji Homogenitas Data antar Kelompok

Tabel 2. Hasil Uji Homogenitas Data Diameter Zona Hambat *Streptococcus mutans* Antar Kelompok

Kelompok Subjek	F	P
Diameter zona hambat <i>Streptococcus mutans</i>	3.742	0.014

Dari Tabel 2. Data diameter zona hambat *Streptococcus mutans* antar kelompok setelah perlakuan dengan ekstrak daun sirih menunjukkan data yang heterogen ($p < 0.05$).

c. Analisis efek perlakuan

Tabel 3. Rerata Diameter Zona Hambat *Streptococcus mutans* Antar Kelompok Setelah Diberikan Perlakuan Ekstrak Daun Sirih

Kelompok Subyek	n	Rerata diameter zona hambat	SB	F	P
Kontrol negatif	7	0.00	0.00	407.04	0.00
Kontrol positif	7	9.29	0.49		
Ekstrak daun sirih 50%	7	0.00	0.00		
Ekstrak daun sirih 75%	7	6.43	0.79		
Ekstrak daun sirih 100%	7	9.00	1.00		

Tabel 3 di atas menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat *Streptococcus mutans* kelompok kontrol negatif adalah 0.00 ± 0.00 , rerata kelompok kontrol positif 9.29 ± 0.49 , rerata kelompok ekstrak daun sirih 50% adalah 0.00 ± 0.00 , rerata kelompok ekstrak daun sirih 75% adalah 6.43 ± 0.79 dan rerata ekstrak daun sirih 100% adalah 9.00 ± 1.00 . Analisis kemaknaan dengan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai $F = 407.04$ dengan nilai $p = 0.00$. Hal ini berarti bahwa rerata diameter zona hambat *Streptococcus mutans* pada kelima konsentrasi kelompok berbeda secara bermakna ($p < 0.05$).

Tabel 4. Uji LSD Diameter Zona Hambat *Streptococcus mutans* Setelah Diberikan Ekstrak Daun Sirih Antar Dua Kelompok

Kelompok	Beda Rerata	P
Kontrol negatif – kontrol positif	09.29	0.00
Kontrol negatif – konsentrasi ekstrak daun sirih 50%	00.00	1.00
Kontrol negatif – konsentrasi ekstrak daun sirih 75%	06.43	0.00
Kontrol negatif – konsentrasi ekstrak daun sirih 100%	09.00	0.00
Kontrol positif – konsentrasi ekstrak daun sirih 50%	09.29	0.00
Kontrol positif – konsentrasi ekstrak daun sirih 75%	02.86	0.00
Kontrol positif – konsentrasi ekstrak daun sirih 100%	00.29	0.39
Konsentrasi ekstrak daun sirih 50% dengan 75%	06.43	0.00
Konsentrasi ekstrak daun sirih 50% dengan 100%	09.00	0.00
Konsentrasi ekstrak daun sirih 75% dengan 100%	02.57	0.00

Tabel 4. Uji lanjutan dengan LSD di dapat perbedaan rerata antara kelompok kontrol positif dan kontrol negatif, terdapat juga perbedaan bermakna ($p < 0.05$). Pada kontrol negatif dengan ekstrak daun sirih konsentrasi 50% tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0.05$). Antara kontrol negatif dengan ekstrak daun sirih 75% dan 100% terdapat perbedaan rerata dan perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$). Ini berarti bahwa ekstrak daun sirih konsentrasi 75% dan 100% mempunyai daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dan perbedaan konsentrasi berpengaruh terhadap daya hambat yang lebih baik. Pada kontrol positif dengan ekstrak daun sirih 50% dan 75% terdapat perbedaan rerata daya hambat dan perbedaan bermakna ($p < 0.05$). Berarti peningkatan konsentrasi dari 50% ke konsentrasi 75% mempunyai daya hambat yang lebih baik.

d. Kriteria Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih.

Tabel 5. Kriteria Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih

Kelompok subyek	Jumlah	Rerata
Konsentrasi ekstrak daun sirih 50%	7	0
Konsentrasi ekstrak daun sirih 75%	7	6
Konsentrasi ekstrak daun sirih 100%	7	9

Pada Tabel 5 Daya hambat sesuai dengan kriteria Davis dan Stout (1971) : sangat kuat ($> 20\text{mm}$), kuat ($10-20\text{mm}$), sedang ($5-10\text{mm}$), lemah ($< 5\text{mm}$). Jadi dari tabel 5 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih 50% tidak mempunyai daya hambat, ekstrak 75% dan 100% mempunyai daya hambat sedang.

Sesuai kriteria dari Davis dan Stout (1971) daya hambat di kelompokkan atas lima kriteria. Hasil penelitian daya hambat Ekstrak daun sirih terhadap *Streptococcus mutans* secara in vitro menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih 50% dengan rerata 0.00 ± 0.00 , begitu pula kontrol negatif, ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih 50% dan kontrol negatif tidak mempunyai efek anti bakteri. Sedangkan pada ekstrak daun sirih 75% dan 100% memiliki kriteria daya hambat sedang ($5-10\text{mm}$). Penelitian ini sesuai dengan penelitian Kursia (2016) mengkategorikan efek antibakteri ekstrak daun sirih ke dalam kategori sedang – kuat (Kursia, dkk., 2016). Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun sirih. Hal ini menunjukkan adanya efek menghambat ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.

Efek menghambat ini terjadi karena ekstrak daun sirih mengandung minyak atsiri di mana komponen utamanya terdiri atas fenol dan senyawa turunannya seperti kavikol, cavibetol, carvacrol, eugenol, dan allilpyrocatechol. Selain minyak atsiri, daun sirih juga mengandung karoten, tiamin, riboflavin, asam nikotinat, vitamin C, tannin, gula, pati, dan asam amino (Abdullah, 2010). Turunan fenol yaitu kavikol dalam sifat antiseptiknya lima kali lebih efektif dibandingkan fenol biasa. Sirih juga mengandung arecoline di seluruh bagian tanaman yang bermanfaat untuk merangsang saraf pusat dan daya pikir. Kandungan eugenol pada daun sirih memiliki efek analgesic dan antibakteri mampu membunuh jamur *Candida albicans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, dan *Staphylococcus aureus* (Nuraini, 2007).

Sesuai dengan penelitian Kursia (2016) pada penelitian ini menunjukkan dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak daun sirih dari 50%, 75% ke 100% adanya perbedaan yang bermakna. Ini menunjukkan bahwa dengan semakin ditingkatkannya konsentrasi ekstrak daun sirih akan mengakibatkan terjadinya peningkatan daya hambat dari ekstrak daun sirih. Terjadinya hal tersebut karena salah satu kandungan fenol dari daun sirih adalah katekin yang berfungsi sebagai antioksidan, antimutagenesis dan antikanker, juga dapat mengurangi pembentukan plak gigi. Senyawa ini bersifat bakterisidal dan menghambat proses glikolisis oleh bakteri kariogenik penghasil glukosa (Dwi, 2005).

Pada ekstrak daun sirih konsentrasi 100% dengan kontrol positif memiliki rerata daya hambat yang hampir samadan tidak ada perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa walaupun dalam konsentrasi yang berbeda antara kedua kondisi tersebut tidak akan mempengaruhi kekuatan daya hambat terhadap *Streptococcus mutans*, kedua kondisi antara ekstrak daun sirih 100% dengan Chlorhexidin memiliki kekuatan daya hambat yang sama. Senyawa tannin yang terdapat pada ekstrak daun sirih berperan sebagai senyawa fenolik. Tanin merupakan poliflavonoid yang biasanya digunakan sebagai bahan penyegar, mempunyai sifat antimikroba terhadap khamir, bakteri dan kapang. Kemampuan tannin sebagai bahan antimikroba diduga karena tannin akan berikatan dengan dinding sel bakteri, sehingga akan menginaktifkan kemampuan menempel bakteri, menghambat pertumbuhan, aktivitas enzim protease dan dapat membentuk ikatan kompleks dengan polisakarida (Ardianti, 2011).

PENUTUP

Dapat disimpulkan dari penelitian ini bahwa ekstrak daun sirih mempunyai daya hambat anti bakteri yang sedang. Terjadinya kondisi ini disebabkan oleh digunakannya ekstrak kasar dari daun sirih. Untuk memperoleh daya hambat yang optimal perlu dilakukan identifikasi fitokimia senyawa poliflavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Astoeti, T E. 2010. Lakukan Perawatan Gigi Menyeluruh. Available from [:http://www.pdgi-online.com](http://www.pdgi-online.com) (Acces 23 Desember 2016).
- Abdullah N, 2010, Pemanfaatan Rebusan Daun Sirih Terhadap Penyakit Gingivitis Pada Daerah Terpencil. Media Kesehatan Gigi. Edisi 2, November.
- Ardianti G.M., 2011, Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Sebagai Obat Kumur Terhadap Penurunan Plak Indeks, Jur II Kesmas, Fak Ilmu Keolahragaan, Univ Negeri Semarang. Skripsi.
- Dian Agustin W., 2005, Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi Antara Hidrogen Peroksida 3% dan Infusum Daun Sirih 20% Terhadap Bakteri mix. J Kedokteran Gigi (Dental Journal) Vol.38 No.1 Januari 2005:45-47. Surabaya: FKG Unair.
- Dwi Marliyawati, 2005, Pengaruh Pemberian Air Seduhan Daun Sirih (*Piper betle* Linn) terhadap Pembentukan Plak Gigi, Artikel Ilmiah, Fak. Ked. Undip.
- Dewi F K, 2010, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ethanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Surakarta : Jurusan Biologi MIPA, Univ. Sebelas Maret.
- Damayanti, R.M., 2005, Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Hijau : Obat Mujarab dari Masa ke Masa. Agro Media Pustaka : Jakarta.
- Jawetz, Melnick, Adelberg, 2008, Mikrobiologi Kedokteran. Alih Bahasa, H. Hartono, C. Rahman, A. Dimanti, A. Diani. Jakarta : EGC. p: 199-200: 233

- Kursia S., Lebang J.S., Taebe B., Burhan A., Rahim W.O.R., Nursamsiar, 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. IJPST Volume 3, No. 2, Juni
- Megananda, H.P., Herijulianti, E., Nurjanah, N., 2009. Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi. Bandung : JKG Poltekkes Depkes. p. 57-80 : 111-114.
- Nuraini, A.D., 2007, Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens Willd*). Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Newman M G., Takei H H., Caranza F A., 2011. *Carranza's clinical periodontology* . Elsevier health sciences, 137 – 139.
- Pintauli S., Hamada T, 2008. Menuju Gigi dan Mulut Sehat : Pencegahan dan Pemeliharaan, Medan : USU Press. Available from : [http://usupress.usu.ac.id/files/Menuju Gigi dan Mulut Sehat_Pencegahan dan Pemeliharaan_Normal_bab1.pdf4](http://usupress.usu.ac.id/files/Menuju_Gigi_dan_Mulut_Sehat_Pencegahan_dan_Pemeliharaan_Normal_bab1.pdf4)
- Priyono, S.H., dan Praptiwi, 2009, Identifikasi Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Piper sp. Asal Papua. *J. Tek Ling*, Vol.10 (30) : 271-276.
- Prijantojo, 2010. Peranan Chlorhexidin Terhadap Kelainan Gigi dan Rongga Mulut. Available from : <http://www.kalbe.co.id> (Acces 7 Nov 2016).
- Putri, Z.F., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten (Skripsi). Universitas Muhammaditah Surakarta : Surakarta.
- Samaranayake, L., 2006, *Essential Microbiology for Dentistry*. Churchill Livingstone : Elsevier Limited p.255-284.
- Taufik, F. Riyanti, E. Hadidjah, Hj Dede, 2008. Index Plaque Differences Between Before and After Chewing Apples. Presentasi dan prosiding *the Asian Oral Health Care and 2 nd ASEAN Meeting on Dental Health Publich Jakarta*. Hal13-19.
- Toar, A.I., Posangi, J., dan Wowor, V., 2013. *Daya Hambat Obat Kumur Cetylpyridinium Chloride dan Obat Kumur Daun Sirih terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans*. *Jurnal Biomedik (JBM) Universitas Sam Ratulangi Manado*, 5:163-168
- Ticoalu, R.L., Wicaksono, D.A., dan Zuliari, K., 2013. *Gambaran Kebutuhan Perawatan Karies Gigi pada Siswa Sekolah Menengah Atas di Kecamatan Lembeh Selatan Kota Bitung*. *Jurnal e-GIGI Universitas Sam Ratulangi. Manado*, 1(2)