

Artikel Penelitian

Studi In-Vitro Efektifitas Grain Kefir dengan Kombinasi Sorbitol Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Viranda Sutanti,¹ Yuanita L. Rachmawati,^{2*} Bintang V. N. Putra,³ Herlambang Pangestu³

¹Departemen Biologi Oral, ²Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat-Pencegahan,

³Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi,

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang

*Penulis korespondensi: yuanita.rachmawati.fk@ub.ac.id

Diterima 23 November 2022; Disetujui 22 Agustus 2023

<https://doi.org/10.23886/ejki.11.259.156>

Abstrak

Karies gigi adalah penyakit kronis jaringan keras gigi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Berbagai metode termasuk aplikasi pasta gigi, senyawa antibakteri dan obat kumur yang mengandung fluoride bersama dengan penggunaan pemanis yang tidak dapat difermentasi seperti sorbitol telah disarankan untuk mengurangi aktivitas bakteri ini. Pada studi ekologi mulut telah mengkonfirmasi efektifitas bakteri probiotik dalam mengurangi jumlah *S. mutans*. Grain kefir merupakan salah satu produk probiotik. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat efektifitas grain kefir murni dan kombinasi dengan sorbitol terhadap pertumbuhan *S. mutans* secara *in vitro*. Penelitian dilakukan di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya pada bulan Januari-Februari 2023. Dilakukan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) menggunakan uji tabung dan KBM (Konsentrasi Bakterisidal Minimum) menggunakan colony counter. Penentuan konstrasi perlakuan diawali dengan uji pendahuluan grain kefir murni konsentrasi 3,125% dan 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100%. Nilai KHM grain kefir murni uji pendahuluan terhadap *S. mutans* pada konsentrasi 12,5%. Pada konsentrasi perlakuan didapatkan nilai KHM grain kefir murni adalah 15% dan kombinasi grain kefir-sorbitol terhadap *S. mutans* yaitu pada konsentrasi 12,5%. Nilai KBM grain kefir murni didapatkan pada konsentrasi 15% dan kombinasi grain kefir-sorbitol pada konsentrasi 12,5%. Kombinasi grain kefir-sorbitol dapat menurunkan pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi 12,5%.

Kata kunci: sorbitol, grain kefir, probiotik, *Streptococcus mutans*.

Effectiveness of the Combination of Sorbitol and Grain Kefir on the Growth of *Streptococcus Mutans* (In-Vitro Study)

Abstract

Dental caries is a chronic disease of dental hard tissue caused by *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Various methods including the application of toothpastes, antibacterial compounds and fluoride-containing mouthwashes along with the use of non-fermentable sweeteners such as sorbitol have been suggested to reduce the activity of these bacteria. In oral ecology studies have confirmed the effectiveness of probiotic bacteria in reducing the number of *S. mutans*. Kefir is a probiotic product. The purpose of this study was to see the effectiveness of pure kefir grains and their combination with sorbitol on the growth of *S. mutans* *in vitro*. The study was conducted in the Oral Biology laboratory of the Faculty of Dentistry, Universitas Brawijaya in January-February 2023. In this study, the MIC (Minimum Inhibitory Concentration) test was carried out using a tube test and the MBC (Minimum Bactericidal Concentration) test was carried out using a colony counter. Determination of the treatment concentration begins with a preliminary test of pure kefir grains with concentrations of 3.125% and 6.25%, 12.5%, 25%, 50% and 100%. The MIC value of pure kefir grains was pre-tested against *S. mutans* at a concentration of 12.5%. At the treatment concentration, the MIC value of pure kefir grain was 15% and the combined kefir-sorbitol grain for *S. mutans* was at a concentration of 12.5%. The MBC value of pure kefir grains was obtained at a concentration of 15% and the combination of kefir-sorbitol grains at a concentration of 12.5%. Grain kefir-sorbitol combination can reduce the growth of *S. mutans* on concentration 12.5%.

Keywords: sorbitol, grain kefir, probiotik, *Streptococcus mutans*.

Pendahuluan

Karies gigi adalah penyakit kronis jaringan keras gigi yang paling umum di seluruh dunia. Karies gigi disebabkan oleh dekalsifikasi bagian anorganik dan penghancuran bagian organik matriks gigi dengan adanya tiga faktor utama, yaitu inang, karbohidrat yang dapat difерментasi, dan bakteri penghasil asam. Oleh karena itu, upaya pencegahan karies gigi sering difokuskan terhadap pengendalian aktivitas bakteri rongga mulut. *Streptococcus mutans* adalah salah satu spesies bakteri terpenting yang terlibat dalam demineralisasi email gigi dan inisiasi karies gigi. Berbagai metode termasuk aplikasi pasta gigi, senyawa antibakteri (misalnya klorheksidin), dan obat kumur yang mengandung fluorid bersama dengan penggunaan pemanis yang tidak dapat difерментasi seperti xylitol telah disarankan untuk mengurangi aktivitas bakteri ini.¹

Xylitol merupakan gula alkohol lima karbon yang telah banyak digunakan sebagai pemanis tambahan dalam produk bebas gula, seperti permen karet, obat kumur dan pasta gigi. Xylitol menunjukkan efek pencegahan terjadinya karies gigi melalui pengurangan plak gigi dan jumlah *S. mutans*. Xylitol tidak hanya mengurangi perkembangan biofilm dengan mengganggu adhesi bakteri, tetapi juga bertindak sebagai transporter kalsium dan remineralisasi pada enamel gigi.² Efek permen karet yang mengandung xylitol terhadap penurunan jumlah *S. mutans* di plak gigi dan saliva telah dipublikasikan oleh Nayak dkk.³ Namun demikian, xylitol tidak efektif terhadap bakteri di rongga mulut pada individu dengan jumlah karies yang rendah.³

Sorbitol dan xylitol adalah poliol atau gula alkohol seperti yang merupakan karbohidrat terhidrogenasi alami dan didistribusikan secara luas ditumbuhan dan hewan. Chan dkk⁴ sugar alcohols (xylitol and sorbitol) telah melaporkan efek penghambatan xylitol dan sorbitol terhadap pemecahan karbohidrat yang diukur dengan pertumbuhan mikroba atau produksi asam in vitro. Sorbitol adalah hexitol yang memiliki dua atom hidrogen lebih banyak daripada glukosa atau fruktosa. Oleh karena itu, metabolismenya memerlukan induksi sistem transpor spesifik yang bergantung energi dan jalur metabolisme spesifik. *S. mutans* tidak menggunakan sorbitol sebagai sumber sintesis glukan atau fruktan. Oleh karena itu, sorbitol memiliki efek terbatas terhadap produksi asam oleh *S. mutans* berbeda dengan sukrosa, fruktosa dan glukosa.⁴

Produk dental dan makanan yang mengandung bakteri probiotik, mendapat perhatian yang meningkat untuk pencegahan karies. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (*World Health Organization*) dan badan pengawas obat dan makanan Amerika Serikat, konsumsi probiotik dalam kadar yang memadai menyebabkan efek kesehatan yang menguntungkan untuk inang mikroorganisme ini. Pada studi ekologi mulut yang dilakukan Srivastava dkk⁵, telah mengkonfirmasi efektifitas bakteri probiotik dalam mengurangi jumlah *S. mutans*.⁵ Namun demikian, penelitian lain mendeteksi jumlah *S. mutans* yang tidak berubah setelah konsumsi produk probiotik. Sehingga saat ini, peran bakteri probiotik dalam mempengaruhi mikroflora rongga mulut masih menjadi isu kontroversial.¹

Produk makanan berbahan susu yang mengandung bakteri probiotik antara lain yogurt, keju, es krim dan kefir. Kefir adalah produk fermentasi susu dengan biji-bijian dan kultur induk yang dibuat dari biji-bijian. Biji-bijian ini mengandung asam laktat, bakteri asam asetat, dan campuran ragi digabungkan bersama dengan kasein. Kasein sendiri sudah banyak dikaitkan dengan pencegahan terjadinya karies dan hubungannya dengan proses demineralisasi enamel gigi.⁶ Konsumsi kefir telah dilaporkan memiliki efek positif untuk kesehatan. Efek menguntungkan dari susu fermentasi ini sebagian dapat dikaitkan dengan penghambatan mikroorganisme patogen oleh produk metabolisme seperti asam organik yang dihasilkan oleh mikroflora kefir. Namun, publikasi tentang efektifitas kefir terhadap karies gigi⁷ dan penyakit periodontal masih terbatas.

Terkait sifat yang menguntungkan, kombinasi sorbitol dan kefir diharapkan dapat digunakan untuk menurunkan risiko karies. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektifitas probiotik yang terbuat dari grain kefir yang dikombinasikan dengan sorbitol terhadap pertumbuhan *S. mutans* secara in vitro.

Metode

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *true experimental post-test only control group design*. Pada penelitian ini dilakukan uji KBM (Konsentrasi Bakterisidal Minimum) dan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) di Laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Februari 2023. Bahan uji yang digunakan adalah sorbitol, kefir dan kombinasi sorbitol dengan kefir. Protokol penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan

Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Reg. No.739/KEPK-POLKESMA/ 2023.

Pembuatan Grain Kefir Susu Sapi

Butir kefir diinokulasi ke dalam susu steril dan difermentasi pada suhu 25 C hingga tercapai pH 4,4 selama 24 jam. Gumpalan dan cairan susu kemudian dipisahkan menggunakan filter plastik di akhir proses fermentasi.⁸ Proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawajaya.

Pembuatan Suspensi *S. mutans*⁹

Pembuatan suspensi uji bakteri *S. Mutans* diawali dengan membuat inokulum bakteri dalam larutan *Brain Heart Infusion (BHI) broth* (Merck).¹⁰ Media BHI-B ditimbang sebanyak 37 gram dan dilarutkan dalam 1 liter aquades dalam tabung erlenmeyer, kemudian dihomogenkan menggunakan stirrer (Thermo Fischer Scientific) dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Setelah homogen, media di sterilisasi dalam autoclave di suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media BHIB siap, dilanjutkan dengan inokulasi bakteri *S. mutans* dari cawan stok ke dalam media BHIB kemudian di sentrifugasi dan disimpan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Media BHIB yang telah berisi bakteri dimasukkan ke dalam spektrofotometer (Shimadzu Spectrophotometer uv-1900i), kemudian diukur Optical Density (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada λ maks = 625 nm setara dengan standar 0,5Mc Farland.¹¹ Dari hasil yang diperoleh ($OD = 0,1$) didapat suspensi bakteri yang mengandung 1×10^8 colony-forming units (CFU)/ml. Dilakukan dilusi sebanyak dua kali untuk mendapatkan koloni sebanyak 1×10^6 CFU/ml (1:100) dengan media BHI-B.

Analisis Mikrobiologi *S. mutans*

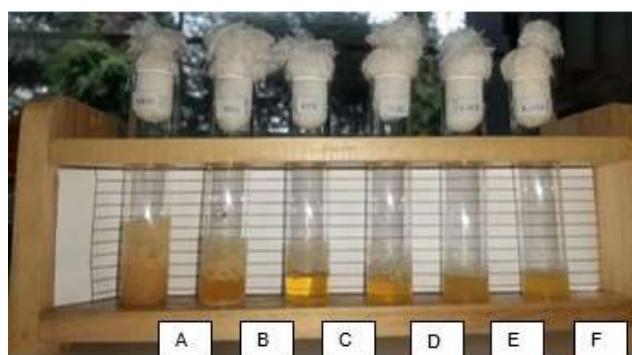
Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan rentang konsentrasi perlakuan yang akan diteliti, yaitu dengan menggunakan konsentrasi kefir 3,125% dan 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100%, dengan dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dilusi tabung. Suspensi *S. mutans* yang telah diinkubasi sesuai dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 kemudian diencerkan kembali hingga mencapai 10^6 CFU/ml. Hasil penelitian pendahuluan didapatkan konsentrasi 12,5% mulai terlihat bening. Sehingga konsentrasi perlakuan yang diambil adalah 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan 25%.

Selanjutnya disiapkan 34 tabung steril dengan rincian: tujuh tabung diisi dengan grain kefir yaitu konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, 25%; Tujuh tabung diisi kombinasi grain kefir dengan konsentrasi yang sama di tambah sorbitol 0,08 gram; Tiga tabung sebagai kontrol berisi sorbitol 0,08 gr, aquades dan klorheksidin sebanyak 1 ml. semua 34 tabung ditambahkan 1 ml suspensi bakteri dan diinkubasi dalam kondisi anaerobik dalam *anaerobic jar* selama 24 jam disuhu 37°C. Nilai konsentrasi hambat minimum ditentukan dengan mengukur kekeruhan masing-masing tabung menggunakan kertas putih bergaris hitam dengan tabung kontrol digunakan sebagai pembanding. Setelah itu, masing-masing tabung diberi label berdasarkan kejernihannya.

Setelah nilai KHM ditentukan, tabung yang mulai terlihat bening diambil dengan ose kemudian digores pada BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*), dan diinkubasi kembali dalam *anaerobic jar* selama 24 jam di suhu 37°C. Setelah 24 jam, koloni bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*. Konsentrasi bakterisidal minimum ditentukan dengan menghitung 0,1% dari *Original inoculum* (OI), yang merupakan bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang ditanamkan dalam kultur media agar sebelum inkubasi.¹²

Hasil

Uji pendahuluan didapatkan konsentrasi 3,125% sangat keruh, 6,25% keruh, 12,5% jernih sedikit keruh, 25% jernih, 50% keruh dengan endapan dan 100% sangat keruh (Gambar 1). Pada uji pendahuluan ini ditetapkan konsentrasi 12,5% sebagai nilai KHM.



Gambar 1. Visualisasi tabung uji tabung pendahuluan konsentrasi A. 100%, B. 50%, C. 25%, D.12,5%, E. 6,25% dan F. 3,125%.

Tabel 1 merupakan uji tabung KHM grain kefir murni dan kombinasi sorbitol dengan rentang konsentrasi dari uji pendahuluan yaitu 12,5%,

15%, 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, sorbitol 0,08 gr, aquades dan klorheksidin. Nilai KHM ditentukan dengan melihat kekeruhan tabung uji. Hasilnya didapatkan untuk grain kefir murni konsentrasi 15% mulai menunjukkan hasil yang jernih,

sehingga konsentrasi ini disimpulkan menjadi nilai KHM. Sedangkan konsentrasi KHM untuk kombinasi grain kefir dan sorbitol didapatkan di konsentrasi 12,5% yang ditandai dengan mulai terlihat jernih.

Tabel 1. Uji Tabung Konsentrasi Hambat Minimum Grain Kefir Murni

Perlakuan	Konsentrasi	Keterangan
Kefir	10%	Sangat keruh
	12,5%	Keruh
	15%*	Jernih
	17,5%	Jernih
	20%	Jernih
	22,5%	Jernih
	25%	Jernih
Kombinasi Kefir dan Sorbitol	10%	Keruh
	12,5%*	Jernih
	15%	Jernih
	17,5%	Jernih
	20%	Jernih
	22,5%	Jernih
	25%	Jernih
Kontrol Positif	Chlorhexidine	Jernih
Kontrol Negatif	Aquades	Sangat keruh
	Sorbitol 0,08 gram	Jernih

Keterangan: (*) Nilai KHM

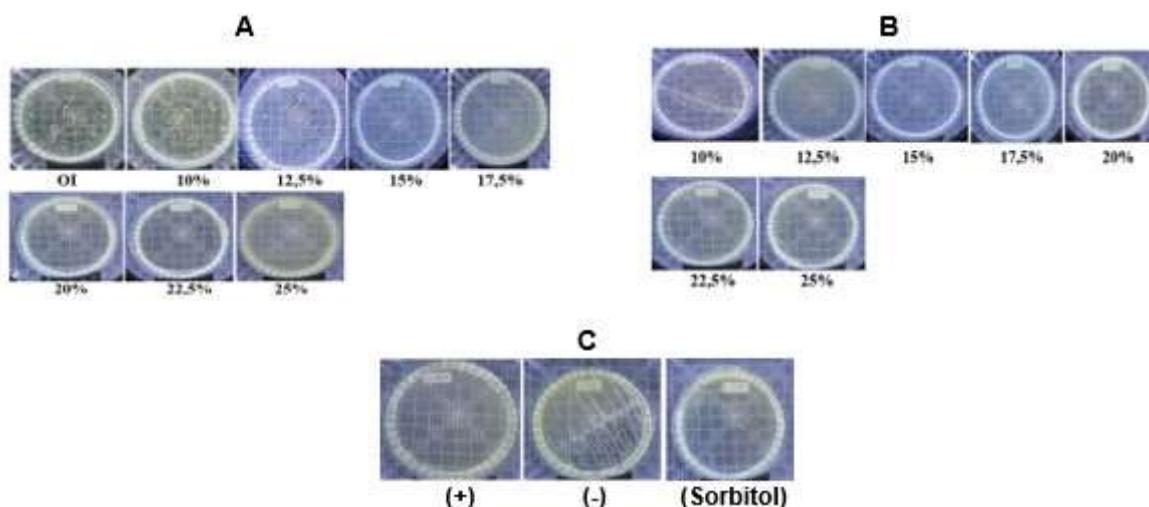
Tabel 2. Uji Konsentrasi Bakterisidal Minimum Grain Kefir Murni dan Kombinasi

Perlakuan	Pengulangan dan Jumlah Koloni			Rata-Rata
	I	II	III	
Grain kefir	OI	272	299	292
	10%	268	254	261
	12,5%	132	134	123
	15% *	0	0	0
	17,5%	0	0	0
	20%	0	0	0
	22,5%	0	0	0
Kombinasi Grain kefir + Sorbitol	25%	0	0	0
	10%	62	52	38
	12,5% *	0	0	0
	15%	0	0	0
	17,5%	0	0	0
	20%	0	0	0
	22,5%	0	0	0
Kontrol positif	25%	0	0	0
	Khlorhexidine	0	0	0
Kontrol negatif	Aquades	316	288	276
	Sorbitol 0,08 gram	100	57	72

Keterangan: (*) Nilai KBM

Tabel 2 adalah rata-rata hasil perhitungan koloni *S.mutans* menggunakan *colony counter* dan Gambar 2 adalah visualisasi *colony counter* untuk menemukan nilai KBM. Nilai KBM grain kefir serta kombinasi grain kefir dan sorbitol terhadap pertumbuhan *S.mutans* ditentukan jika pertumbuhan koloni bakteri adalah 0

atau kurang dari 0,1% dari OI. Nilai OI adalah 154 CFU/ml, jadi 0,1% darinya adalah 0,154. Berdasarkan persyaratan tersebut, KBM dari grain kefir adalah konsentrasi 15% serta kombinasi grain kefir dan sorbitol terhadap *S.mutans* mempunyai KBM pada konsentrasi grain kefir 12,5%.



Gambar 2. Visualisasi Koloni *S.Mutans* Menggunakan *Colony Counter* untuk Menentukan Nilai KBM. A Kelompok grain kefir murni. B Kelompok kombinasi grain kefir dan sorbitol. C Kelompok (+) Klorhexidine, (-) Aquades

Diskusi

Penelitian Dhar dkk¹³ menunjukkan konsumsi tinggi sukrosa dan gula dapat menyebabkan terjadinya karies, sehingga mulai digalakkan konsumsi gula rendah atau non-fermentasi seperti xylitol dan sorbitol. Sorbitol mengurangi produksi asam di plak gigi yang berperan dalam pembentukan karies awal.¹³ Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk pembuatan produk dengan komposisi bahan mengandung sorbitol dan kefir. Pemilihan dosis sorbitol 0,08 gram adalah berat rata-rata sorbitol yang ada dalam kandungan bahan makanan yang memiliki berat 3 gram.¹⁴ Wicklow, Ireland Sorbitol adalah poliol yang paling umum digunakan sebagai alternatif untuk gula dengan kalori rendah.¹⁵

Penelitian oleh Chan dkk⁴ mengungkapkan efek penghambatan yang signifikan terhadap pembentukan biofilm *S. mutans*, ketika xylitol atau sorbitol digunakan secara tunggal. Penelitian Chan dkk⁴ juga menemukan hal sebaliknya, suplementasi sukrosa secara signifikan mengurangi efek penghambatan poliol terlepas dari adanya xylitol, sorbitol atau kombinasi pada konsentrasi 10%, yang terbukti dari kuantifikasi biofilm dan teknik pencitraan.⁴

Oleh karena itu, dapat diasumsikan bahwa produk kesehatan yang mengandung gula poliol, tidak akan mampu mencegah plak gigi yang mengandung *S. mutans*, jika tersedia banyak sukrosa di rongga mulut.⁴ Hasil penelitian ini menunjukkan hal yang hampir serupa, yaitu pada uji tabung larutan sorbitol 0,08 gr menunjukkan hasil cairan yang jernih dan pada *colony counter* menunjukkan jumlah rata-rata koloni bakteri adalah 76,3. Penelitian Chan dkk⁴ menggunakan dosis yang lebih tinggi yaitu 10% sehingga jumlah koloni bakteri yang didapatkan berbeda. Penelitian Rafeek dkk¹⁵ menunjukkan sorbitol juga mempengaruhi beberapa spesies Streptokokus lain dalam air liur, termasuk meningkatkan kelimpahan *S. cristatus* yang merupakan bakteri komensal oral sehingga menghambat bakteri terkait dengan penyakit periodontitis kronis.¹⁵

Kefir adalah produk susu yang dihasilkan dari fermentasi berbagai susu hewani (yaitu kambing atau sapi) dengan menambahkan biji kefir. Butir kefir berwarna kuning dengan ukuran diameter bervariasi dari 1–6 mm. Kualitas kefir sangat dipengaruhi oleh jenis susu yang digunakan, dosis butir kefir, jenis bakteri asam laktat, khamir, dan waktu inkubasi.¹⁶ Kefir juga dikenal dengan berbagai

nama yaitu kefyr, kephir, kefer, kiaphur knapon, kepi atau kippi. Gao and Li¹⁷ melaporkan spesies mikroflora pada kefir dan biji kefir adalah bakteri asam laktat (*Lactobacilli*, *Lactococci*, *Streptococci*), bakteri asetat dan ragi (*Candida sp.*, *Kazachstania sp.*, *Kluyveromyces sp.*, *Saccaromyces sp.*, *Torulosis Sp.*, *Zygosaccharomyces sp.*).¹⁷

Hasil penelitian menunjukkan grain kefir murni dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi KHM 12,5% dan 15% untuk KBM. Hal ini sejalan dengan penelitian Lin dkk¹⁸ tentang pengaruh *Lactobacillus* probiotik terhadap *S. mutans*. Studi in vitro yang dilakukan oleh Lin dkk¹⁸ membuktikan bahwa spesies *Lactobacillus* probiotik telah menunjukkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan mengubah komposisi biofilm saliva yang berperan penting terhadap terjadinya karies gigi. Kim dan Lee melakukan penelitian tentang efek penghambatan dari *Lactococcus lactis* HY 449 dan menemukan bahwa strain probiotik *Lactococcus lactis* HY 449 membantu pencegahan pembentukan biofilm kariogenik. Hal ini disebabkan oleh efek penghambatan ekspresi gen glikosiltransferase oleh *Lactococcus lactis* yang berperan penting dalam metabolisme sukrosa oleh *S. mutans*.¹⁹ Penelitian Reddy dkk²⁰ melaporkan konsumsi probiotik susu kefir telah mampu menurunkan CFU *S. mutans* pada penelitian in vivo dengan subjek penelitian anak usia 8-12 tahun. Penelitian in vivo pada subjek usia 22-32 tahun yang dilakukan Ghasempour dkk²¹ menunjukkan kelompok subjek yang menggunakan obat kumur sodium fluoride dan subjek yang meminum kefir keduanya dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*.²¹

Pada penelitian uji tabung grain kefir murni diperoleh hasil konsentrasi 12,5% tampak jernih sedikit keruh, 25% berwarna jernih, 50% keruh dengan endapan dan 100% sangat keruh. Pada uji KBM grain kefir murni didapatkan konsentrasi 15% sampai dengan 25% tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada *colony counter*. Fenomena ini dimungkinkan adanya penggunaan aquades sebagai pelarut untuk kefir. Komposisis kefir terdiri atas asam laktat, protein, karbohidrat dan lemak. Lemak merupakan senyawa non polar.²² Lemak berpengaruh pada kelarutan kefir dalam aquades yang bersifat polar. Disamping itu kefir memiliki viskositas tinggi karena dipengaruhi oleh *curd* kefir akibat bakteri asam laktat (BAL) selama fermentasi dan pertumbuhan starter bakteri menghasilkan eksopolisakarida yang akan memproduksi molekul

yang besar.²³ Karakter kimia aquades dan kefir inilah yang menyebabkan munculnya kekeruhan dan endapan pada larutan dengan konsentrasi kefir yang tinggi, dikarenakan aquades tidak dapat melarutkan kefir secara sempurna.

Kekurangan dari kefir adalah memiliki rasa asam yang cenderung kurang disukai. Chen dkk²⁴ melaporkan bahwa rasa asam kefir disebabkan oleh asam laktat, dan muncul buih karena karbon dioksida, dan konsentrasi alkohol dari aksi sel ragi dalam biji-bijian. Kefir mengandung campuran kompleks bakteri asam laktat, bakteri asetat, dan ragi. Untuk mengurangi rasa asam dapat dilakukan dengan mencampurkan beberapa jenis gula. Karena latar belakang inilah pada penelitian ini dilakukan kombinasi dengan sorbitol dengan mempertimbangkan efek anti kariogenik yang dimiliki oleh sorbitol.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak dilakukan identifikasi bakteri probiotik yang terdapat dalam grain kefir yang digunakan. Namun proses pembuatan grain kefir telah mendasarkan pada penelitian sebelumnya.⁸ Kekuatan dari studi ini adalah masih terbatasnya penelitian terkait efektifitas kombinasi grain kefir dan sorbitol dalam penghambatan *S. mutans*, sehingga hasil penelitian ini dapat menjadi referensi untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

Kesimpulan

Kombinasi kefir dan sorbitol dengan konsentrasi 12,5% dapat menurunkan pertumbuhan *S. mutans* secara in-vitro. Penelitian ini membuktikan adanya kombinasi yang baik antara sorbitol dan kefir dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Daftar Pustaka

1. Ghasemi E, Mazaheri R, Tahmourespour A. Effect of probiotic yogurt and xylitol-containing chewing gums on salivary *S. mutans* count. *J Clin Pediatr Dent.* 2017;41:257-63. doi: 10.17796/1053-4628-41.4.257
2. Janakiram C, Deepan Kumar C., Joseph J. Xylitol in preventing dental caries: A systematic review and meta-analyses. *J Nat Sci Biol Med.* 2017;8:16-21. doi: 10.4103/0976-9668.198344
3. Nayak PA, Nayak UA, Khandelwal V. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2014;6:89-94. doi: 10.13181/mji.v6i3.826
4. Chan A, Ellepolka K, Truong T, Balan P, Koo H, Seneviratne CJ. Inhibitory effects of xylitol and sorbitol on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* biofilms are repressed by the presence of sucrose. *Arch Oral Biol.* 2020;119:104886. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104886

5. Srivastava S, Saha S, Kumari M, Mohd S. Effect of probiotic curd on salivary ph and *streptococcus mutans*: A double blind parallel randomized controlled trial. J Clin Diagnostic Res. 2016;10:ZC13-6. doi: 10.7860/JCDR/2016/15530.7178
6. Sutanti V, Hartami E, Milla L EI, Saharani F. Etawa goat milk's casein as an antibacterial agent against *Streptococcus mutans* on primary tooth Etawa Goat Milk's casein as an antibacterial agent against *Streptococcus mutans* on primary tooth. AIP Conf Proc. 2022;2513:020011. doi: 10.1063/5.0099363
7. Cogulu D, Topaloglu-Ak A, Caglar E. Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* J Dent Sci. 2010;5:144-9. doi: 10.1016/S1991-7902(10)60021-9
8. Farag MA, Jomaa SA, Aida AE-WE-S, Hesham R. The many faces of kefir fermented dairy products. Nutrients. 2020;12:346. doi: 10.3390/nu12020346
9. Sutton S. Determination of inoculum for microbiological testing. J GXP Compliance. 2011;15:49-53.
10. Sulistiowati CP, Suhartono M, Rahmawati DF. In-Vitro Inhibitory Efficacy of 3 Types of probiotics on the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria. Front Biosci. 2023;28:106. doi: 10.31083/j.fbi2805106
11. Leber AL. Preparation of routine media and reagents used in antimicrobial susceptibility testing. in: clinical microbiology procedures handbook. Washington, DC: ASM Press. 2016. doi: 10.1128/9781555818814. ch5.20.1
12. Sutanti V, Destyawati AA. The use of yellow kepok bananapeel extract(*MusaparadisiacaL.varbluggoe*). J Smart Bioprospecting Technol. 2019;01:16-20. doi: 10.21776/ub.jsmarttech.2019.001.01.4
13. Dhar V, Tinanoff N. The role of sugar alcohols in caries prevention. Dimens Dent Hyg. 2016;14(5):58-61.
14. Alshibani N, Shalabi M, AlMugbel K, AlSaqr E, AlFarraj N, Allam E. Xylitol content and acid production of chewing gums available in the markets of Saudi Arabia. Saudi Dent J. 2022;34:121-8. doi: 10.1016/j.sdentj.2021.11.001
15. Rafeek R, Carrington CVF, Gomez A. Xylitol and sorbitol effects on the microbiome of saliva and plaque. J Oral Microbiol. 2019;11:1536181. doi: 10.1080/20002297.2018.1536181
16. Alraddadi FAJ, Ross T, Powell SM. Evaluation of the microbial communities in kefir grains and kefir over time. Int Dairy J. 2023;136:105490. doi: 10.1016/j.idairyj.2022.105490
17. Gao X, Li B. Chemical and microbiological characteristics of kefir grains and their fermented dairy products: A review. Cogent Food Agric. 2016;2. doi: 10.1080/23311932.2016.1272152
18. Lin X, Chen X, Tu Y, Wang S, Chen H. Effect of probiotic lactobacilli on the growth of *Streptococcus mutans* and multispecies biofilms isolated from children with active caries. Med Sci Monit. 2017;23:4175-81. doi: 10.12659/MSM.902237
19. Kim Y-J, Lee S-H. Inhibitory Effect of *Lactococcus lactis* HY 449 on Cariogenic Biofilm. J Microbiol Biotechnol. 2016;26:1829-35. doi: 10.4014/jmb.1604.04008
20. Reddy S, Madhu V, Punithavathy R, Satyam M, Chowdary UK, Mythraiye R. Comparative evaluation of efficacy of kefir milk probiotic curd and probiotic drink on *Streptococcus mutans* in 8–12-year-old children: An in vivo study. Int J Clin Pediatr Dent. 2021;14:120-7. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1883
21. Ghasempour M, Sefdgard SAA, Moghadamnia AA, Ghadimi R, Gharekhani S, Shirkhani L. Comparative study of kefir yogurt-drink and sodium fluoride mouth rinse on salivary mutans streptococci. J Contemp Dent Pract. 2014;15:214-7. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1517
22. Kurniati T, Windayani N, Listiawati M. Total Lactic acid, protein, fat, and carbohydrates in curd kefir and cow colostrum kefir. J Biodjati. 2020;5:271-80. doi: 10.15575/biodjati.v5i2.9668
23. Amelia F, Taufik E, Arief I. Karakteristik Kefir Susu Sapi Dengan Penambahan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*). J Ilmu Pertan Indones. 2022;28:34-45. doi: 10.18343/jipi.28.1.34
24. Chen MJ, Liu JR, Lin CW, Yeh YT. Study of the microbial and chemical properties of goat milk kefir produced by inoculation with Taiwanese kefir grains. Asian-Australasian J Anim Sci. 2005;18:711-5. doi: 10.5713/ajas.2005.711