

Isolasi dan karakterisasi bakteri kariogenik pada pasien yang terdiagnosis pulpitis: penelitian observasional

Rinawati Satrio¹
Supriyati^{1*}
Fadli Ashar¹
Salwa Az-Zahra¹
Dwi Nur Indah Sari¹
Meylida Ichsyani¹

ABSTRAK

Pendahuluan: Karies gigi adalah hilangnya struktur kimia penyusun gigi yang disebabkan oleh interaksi kompleks antara mikroorganisme rongga mulut pada plak gigi, diet dan faktor *host*. Pencegahan karies dapat dilakukan dengan manipulasi bakteri yang diarahkan pada bakteri kariogenik dominan yang diisolasi dari karies. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri kariogenik pada pasien yang terdiagnosis pulpitis. **Metode:** Jenis penelitian observasional deskriptif ini dilakukan dengan *consecutive sampling*. Sampel penelitian diambil dari karies gigi dengan kedalaman dentin pada lima pasien di Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) Unsoed yang terdiagnosis pulpitis bulan Desember 2020-Februari 2021 pada saat pandemi Covid-19. Identifikasi dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media agar darah, *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) kemudian dilakukan pengamatan morfologi, perhitungan koloni bakteri, pewarnaan Gram dan uji-biokimia. **Hasil:** Jenis bakteri yang dapat diidentifikasi dari karies adalah *Staphylococcus aureus* (80%), *Staphylococcus intermedius* (40%), *Coagulase Negative Staphylococcus* (60%), *Lactobacillus sp* (80%) dan *Lactobacillales* Gram positif (20%). **Simpulan:** Isolasi dan karakterisasi bakteri kariogenik dari sampel karies pada pasien pulpitis didapatkan isolat yang diduga bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Coagulase Negative Staphylococcus* (CoNS), *Lactobacillus sp* dan *Lactobacillales* Gram positif. Bakteri yang paling sering ditemukan pada sampel karies gigi adalah *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus sp*.

Kata kunci

karies gigi, pulpitis, *staphylococcus aureus*, *lactobacillus*

Isolation and characterization of cariogenic bacteria in patients diagnosed with pulpitis: observational study

¹Departemen Biomedis, Jurusan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, Indonesia

*Korespondensi

Email | supriyatiuphik@unsoed.ac.id

Submisi | 12 Juni 2022

Revisi | 15 Juni 2022

Penerimaan | 26 April 2023

Publikasi Online | 30 April 2023

DOI: [10.24198/jkg.v35i1.37693](https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.37693)

Sitasi | Satrio R, Supriyati, Ashar F, Az-Zahra S, Sari DNI, Ichsyani M. Isolasi dan karakterisasi bakteri kariogenik pada pasien yang terdiagnosis pulpitis.

J Ked Gi. 2023;35(1):60-69.

DOI: [10.24198/jkg.v35i1.37693](https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.37693)



Copyright: © 2023 oleh penulis, diserahkan ke Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk open akses publikasi dibawah syarat dan ketentuan dari Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ABSTRACT

Introduction: Dental caries is the loss of the chemical structure of the teeth that is caused by complex interactions between oral microorganisms on dental plaque, diet and host factors. Caries prevention can be done by manipulation of bacteria directed at the dominant cariogenic bacteria isolated from caries. This study aims to isolate and characterize cariogenic bacteria in patients at the Universitas Jenderal Soedirman Dental Hospital. **Methods:** This descriptive observational study was conducted with consecutive sampling. Samples were taken from dental caries at dentine depth in 5 patients at Universitas Jenderal Soedirman Dental Hospital who were diagnosed with pulpitis from Desember 2020 until Februari 2021. Identification was done by growing bacteria on blood agar media, Mannitol Salt Agar (MSA) and Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA) then morphological observations, bacterial colony counting, Gram staining and biochemical tests were done. **Results:** The types of bacteria that can be identified from caries are *Staphylococcus aureus* (80%), *Staphylococcus intermedius* (40%), *Coagulase Negative Staphylococcus* (60%), *Lactobacillus sp.* (80%) and Gram positive *Lactobacillales* (20%). **Conclusion:** Isolation and characterize cariogenic bacteria from dental caries found isolates suspected to be *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Coagulase Negative Staphylococcus* (CoNS), *Lactobacillus sp* and Gram positive *Lactobacillales*. The bacteria that are often found in dental caries samples are *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus sp*.

Keywords

dental caries, pulpitis, *staphylococcus aureus*, *lactobacillus*

PENDAHULUAN

Karies berasal dari bahasa Latin yang berarti busuk. Karies gigi adalah hilangnya struktur kimia penyusun gigi yang disebabkan oleh interaksi kompleks antara mikroorganisme rongga mulut pada plak gigi, diet dan faktor host meliputi faktor sosial, genetik dan respon imun.¹ Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, prevalensi karies gigi secara nasional sebesar 45,5%.² Prevalensi karies gigi di Provinsi Jawa Tengah sebesar 43,4%, sedangkan prevalensi karies di kabupaten Banyumas sebesar 45,24%.³

Plak gigi sebagai salah satu faktor penyebab karies gigi, tersusun dari komunitas kompleks populasi bakteri sebagai mikrokoloni yang terpisah dalam lingkungan beragam secara fisiologis.^{1,4} Beragam bakteri yang ditemukan pada karies gigi antara lain bakteri kokus Gram positif (*Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *Staphylococcus aureus*, *Atopobium spp*, *Peptostreptococcus spp.*, dan *Enterococcus faecalis*), bakteri batang Gram positif (*Lactobacillus fermentum*, *L. acidophilus*, *Actinomyces odontolyticus*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. israelii*, *Bifidobacterium dentium*, dan *Propionibacterium spp.*), bakteri kokus Gram negatif (*Veillonella parvula* dan *Nisseria spp.*) dan bakteri batang Gram negatif (*Bacteriodes denticola*, *B. melaninogenicus*, *Fusobacterium necrophorum*, *F. mortiferum*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogens*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescence*, *Haemophilus spp.*, *Prevotella spp.*, dan *Leptotrichia spp.*) dan jamur (*Candida albicans*, *C. tropicalis* dan *C. glabrata*).¹

Beberapa penelitian menemukan bahwa *Streptococcus mutans* merupakan bakteri kariogenik dominan yang ditemukan pada karies gigi. *Streptococcus mutans* mempunyai kemampuan untuk menghasilkan asam (*acidogenic*) dan mampu untuk bertahan hidup serta berkembang pada pH rendah (*aciduric*).^{1,4} *Streptococcus mutans* dan bakteri mulut asidogenik juga memiliki kemampuan adhesi pada permukaan gigi, memproduksi polisakarida ekstraseluler yang dapat meningkatkan retensi pada permukaan gigi dan memfasilitasi akumulasi plak, serta mampu memproduksi asam organik untuk menghasilkan lingkungan asam. Kemampuan *Streptococcus mutans* tersebut mampu mempertahankan bakteri *Lactobacillus sp* baik secara mekanis dengan adanya polisakarida ekstraseluler maupun dengan menyediakan lingkungan pH rendah yang disukai *Lactobacillus sp*.⁵ Selain itu, *Streptococcus mutans* membentuk plak gigi dengan bakteri kariogenik lainnya diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* yang juga merupakan bakteri kokus Gram positif.⁶ Lingkungan asam yang dihasilkan oleh bakteri memicu proses demineralisasi pada email dan menginvasi dentin melalui tubulus dentinalis sehingga menyebabkan terbentuknya lesi karies. Lesi karies yang tidak tertangani pada akhirnya dapat menyebabkan peradangan pada pulpa sehingga penderita mengalami pulpitis.⁶

Pencegahan karies dapat dilakukan dengan memanipulasi ekologi bakteri kariogenik agar bakteri tersebut tidak dapat beradaptasi dan mengurangi kariogenitas odontopatogen. Secara umum, manipulasi bakteri diarahkan pada bakteri kariogenik dominan yang diisolasi dari karies.⁴ Penelitian mengenai bakteri kariogenik dominan pada pasien pulpitis masih belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri kariogenik pada pasien yang terdiagnosis pulpitis.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian observasional deskriptif untuk mengamati jenis bakteri yang terdapat dalam karies gigi pasien RSGM Unsoed. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di RSGM Unsoed Purwokerto, sedangkan karakterisasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman.

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien yang datang berobat ke Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jenderal Soedirman (RSGM Unsoed), terdiagnosis pulpitis serta menuliskan persetujuan dalam partisipasi kegiatan tanpa ada paksaan (*informed consent*). Metode pengambilan sampel yaitu *consecutive sampling*. Sampel penelitian berupa bakteri diisolasi dari karies gigi pada lima pasien di RSGM Unsoed yang terdiagnosis pulpitis. Diagnosa pulpitis dibuat oleh dokter gigi berdasarkan tanda dan gejala serta pemeriksaan klinis yaitu terdapat kavitas pada permukaan oklusal/bukal/lingual/proksimal gigi permanen dengan kedalaman dentin, sondasi positif, perkusi negatif dan tes vitalitas gigi positif. Kriteria inklusi pasien adalah (1) pasien dengan diagnosis klinis pulpitis pada gigi permanen, (2) tanpa disertai abses periapikal, (3) belum pernah mendapatkan perawatan atau restorasi pada gigi tersebut, (4) tidak mendapatkan terapi antibiotik selama kurang lebih 3 bulan terakhir. Kriteria eksklusi pasien adalah (1) pasien pulpitis pada gigi decidui, (2) gigi telah mendapatkan perawatan saluran akar atau telah direstorasi (karies sekunder), (3) ada abses periapikal. Jumlah sampel pada penelitian ini terbatas hanya lima pasien yang masuk dalam kriteria inklusi pasien karena pada saat dilakukan penelitian jumlah pasien yang datang ke Rumah Sakit Gigi dan Mulut Unsoed sedikit akibat pandemi Covid-19 yang terjadi pada saat itu.

Pengambilan sampel karies dilakukan dengan tetap mematuhi protokol kesehatan dan pasien telah melakukan *rapid test* antigen Covid-19 dan dinyatakan negatif Covid-19. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya ekskavator (Windsor, Pakistan), kaca mulut (Windsor, Pakistan), sonde (Windsor, Pakistan), pinset (Windsor, Pakistan), *microtube* (GSBio, China), dan alat-alat yang digunakan dalam isolasi dan identifikasi bakteri secara mikrobiologi. Bahan-bahan yang digunakan antara lain media transport, media *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Himedia, Mumbai India), *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) (Merck, Darmstadt, Jerman), media agar darah (Merck, Darmstadt, Jerman), *Nutrient Broth* (Himedia, Mumbai India), *Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) (Himedia, Mumbai, India), pewarna Gram, dan media uji biokimia.

Prosedur penelitian ini terbagi dalam beberapa tahap yaitu pengambilan sampel, kultur bakteri, subkultur bakteri, pewarnaan Gram dan uji biokimia. Sebelum pengambilan sampel, pasien diinstruksikan untuk menyikat gigi terlebih dahulu dan tidak makan minum selama 1 jam. Sampel diambil dari dasar dan dinding kavitas menggunakan ekskavator. Pengambilan dilakukan dengan cara menggoreskan ekskavator dari dasar kavitas ke arah dinding kavitas dengan gerakan satu arah sebanyak 3 kali. Hasil ekskavasi tersebut dimasukkan

ke dalam media transport (larutan NaCl 0,9% steril) 1 mL pada microtube 1,5 mL. *Microtube* diberi label sesuai dengan kode sampel dan disimpan dalam *cool box*. Sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. Sampel yang sudah didapatkan dipindahkan ke tabung reaksi kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Sampel selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan dengan menyiapkan tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 mL. Sampel dari microtube diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1 untuk didapatkan pengenceran 10^{-1} lalu dihomogenkan. Selanjutnya dilakukan kultur bakteri pada media agar darah, media *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Kultur bakteri dilakukan dengan metode *spread plate* menggunakan *drugalsky*.⁷ Bakteri yang ditumbuhkan pada media MSA diinkubasi secara aerob, sedangkan bakteri yang ditumbuhkan pada media agar darah dan MRSA diinkubasi secara anaerob. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil kultur bakteri selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi koloni, perhitungan koloni, pewarnaan Gram dan uji biokimia.

Perhitungan koloni dilakukan dengan mengelompokkan bakteri yang tumbuh pada media agar darah, MSA, dan MRSA dengan menggunakan *Colony Forming Unit* (CFU) dengan bantuan *colony counter*. Hasil yang didapatkan dituliskan dalam tabel 1, 2, dan 3. Bakteri yang tumbuh pada media agar darah, MSA, MRSA dilakukan subkultur untuk pemurnian bakteri dengan cara mengambil 1 koloni kemudian ditanam pada masing-masing medianya dengan metode *streak plate*. Masing-masing bakteri selanjutnya diberi kode berdasarkan asal sampel dan media tempat tumbuh (misal S1.D1: Sampel 1 koloni 1 pada media agar darah, S1.M1: Sampel 1 koloni 1 pada media MSA, dan S1.M1: Sampel 1 koloni 1 pada media MRSA). Bakteri selanjutnya diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C.

Koloni yang tumbuh pada media agar darah, MSA dan MRSA dilakukan pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi sel di bawah mikroskop. Hasil pewarnaan Gram dituliskan dalam tabel 4, 5, dan 6. Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia. bakteri yang tumbuh pada media MSA dilakukan uji katalase, koagulase, oksidase, fermentasi karbohidrat (glukosa dan mannitol), bakteri yang tumbuh pada media MRSA dilakukan uji katalase, oksidase, gas CO₂ dari glukosa, dan fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa dan mannitol), bakteri yang tumbuh pada media agar darah dilakukan uji katalase, oksidase, indol, *Voges Proskauer* (VP), gas CO₂ dari glukosa, koagulase, fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sorbitol, mannitol, dan inulin). Hasil uji biokimia selanjutnya ditulis dalam Tabel 4, 5, dan 6.

Data yang diperoleh secara langsung dari pengamatan dan pengolahan manual di laboratorium dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian berupa perhitungan koloni, pengamatan morfologi koloni, pewarnaan Gram dan uji biokimia didistribusikan dalam bentuk tabel. Identifikasi dilakukan dengan membandingkan hasil penelitian dengan buku *Bergey's Manual Identification*.^{4,7} Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020-Februari 2021.

HASIL

Hasil pengamatan dan perhitungan koloni bakteri pada media agar darah, MSA, dan MRSA dapat dilihat pada Tabel 1, 2 dan Tabel 3.

Tabel 1. Perhitungan koloni bakteri pada media agar darah

Kode Sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Pinggiran	Permukaan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)
S1.D1	Irregular	putih susu	cembung	tidak beraturan	halus mengkilap	$2,60 \times 10^2$
S1.D2	Bulat	putih transparan	datar	rata	halus	$1,00 \times 10^1$
S1.D3	bulat kecil	putih susu	cembung	rata	halus	$1,11 \times 10^4$
S1.D4	bulat	putih kekuningan	cembung	rata	halus	$1,03 \times 10^3$
S2.D1	Bulat	putih susu	cembung	rata	halus	$1,72 \times 10^5$
S3.D1	Bulat	putih susu	cembung	rata	halus	$4,48 \times 10^4$
S3.D2	Bulat	putih dikelilingi zona kuning	cembung	rata	halus	$2,71 \times 10^4$
S4.D1	Bulat	putih dikelilingi zona kuning	cembung	rata	halus	$5,35 \times 10^4$
S4.D2	Bulat	putih susu	cembung	rata	halus	$1,18 \times 10^4$
S5.D1	Bulat	putih susu	cembung	rata	halus mengkilap	$3,37 \times 10^4$

Keterangan: S1.D1: Sampel 1 koloni 1, S1.D2: Sampel 1 koloni 2, S1.D3: Sampel 1 koloni 3, S1.D4: Sampel 1 koloni 4, S2.D1: Sampel 2 koloni 1, S3.D1: Sampel 3 koloni 1, S3.D2: Sampel 3 koloni 2, S4.D1: Sampel 1 koloni 1, S4.D2: Sampel 4 koloni 2, S5.D1 : Sampel 5 koloni 1. (Sumber: Data primer yang diolah, 2020)

Tabel 1 menunjukkan hasil pengamatan pada media agar darah, jumlah koloni bakteri yang paling banyak yaitu dengan bentuk bulat, warna putih susu, elevasi cembung, pinggiran rata dan permukaan halus dengan jumlah bulat $1,72 \times 10^5$ CFU/ml dari sampel S2.D1. Jumlah koloni bakteri yang paling sedikit yaitu bentuk bulat warna putih transparan, elevasi cembung, pinggiran rata dan permukaan halus dengan jumlah $1,00 \times 10^1$ CFU/mL dari sampel S1.D2.

Tabel 2. Perhitungan koloni bakteri pada media MSA

Kode Sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Pinggiran	Permukaan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)
S1.M1	bulat	putih susu	cembung	Rata	halus mengkilap	$2,20 \times 10^2$
S1.M2	bulat	putih kekuningan	cembung	Rata	halus	$1,00 \times 10^2$
S2.M1	bulat	putih susu	cembung	Rata	halus	$1,00 \times 10^1$
S3.M1	bulat	putih kekuningan	cembung	Rata	halus	$7,70 \times 10^2$
S3.M2	bulat	putih susu	cembung	Rata	halus	$2,00 \times 10^2$
S4.M1	bulat	putih susu	cembung	Rata	halus	$1,34 \times 10^3$
S5.M1	bulat	putih susu	cembung	Rata	halus	$1,60 \times 10^2$

Keterangan: S1.M1: Sampel 1 koloni 1; S1.M2: Sampel 1 koloni 2; S2.M1: Sampel 2 koloni 1; S3.M1: Sampel 3 koloni 1; S3.M2: Sampel 3 koloni 2; S4.M1: Sampel 4 koloni 1; S5.M1: Sampel 5 koloni 1. (Sumber: Data primer yang diolah, 2020)

Berdasarkan Tabel 2 Hasil pengamatan pada media MSA, jumlah koloni bakteri yang paling banyak yaitu dengan bentuk bulat, warna putih susu, elevasi cembung, pinggiran rata dan permukaan halus dengan jumlah $1,34 \times 10^3$ CFU/mL dari sampel S4.M1. Jumlah koloni bakteri yang paling sedikit yaitu bentuk bulat, warna putih susu, elevasi cembung, pinggiran rata, dan permukaan halus dengan jumlah $1,00 \times 10^1$ CFU/mL dari sampel S2.M1.

Tabel 3. Perhitungan koloni bakteri pada media MRSA

Kode Sampel	Bentuk	Warna	Elevasi	Pinggiran	Permukaan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)
S1.L1	Bulat	putih krem	cembung	rata	halus	$1,64 \times 10^4$
S1.L2	Bulat	putih transparan	datar	rata	halus	$3,40 \times 10^4$
S2.L1	Bulat	putih krem	cembung	rata	halus	$3,56 \times 10^3$
S3.L1	Bulat	putih krem	cembung	rata	halus	$3,04 \times 10^3$
S3.L2	Bulat	putih dikelilingi putih samar	cembung	rata	halus	$4,85 \times 10^3$
S4.L1	Bulat	putih krem	cembung	rata	halus	$6,12 \times 10^3$
S5.L1	Bulat	putih krem	cembung	rata	halus	$4,90 \times 10^3$

Keterangan: S1.L1 : Sampel 1 koloni 1, S1.L2 : Sampel 1 koloni 2, S2.L1 : Sampel 2 koloni 1, S3.L1 : Sampel 3 koloni 1, S3.L2 : Sampel 3 koloni 2, S4.L1 : Sampel 4 koloni 1, S5.L1 : Sampel 5 koloni 1
Sumber : Data primer yang diolah, 2020

Tabel 3 menjelaskan hasil pengamatan pada media MRSA, jumlah koloni bakteri yang paling banyak yaitu dengan bentuk bulat, warna putih transparan, elevasi datar, pinggiran rata dan permukaan halus dengan jumlah $3,40 \times 10^4$ CFU/mL dari sampel S1.L2. Jumlah koloni bakteri yang paling sedikit yaitu bentuk bulat warna putih krem, elevasi cembung, pinggiran rata dan permukaan halus dengan jumlah $3,04 \times 10^3$ CFU/mL dari sampel S3.L1. Rata-rata jumlah koloni bakteri tiap sampel yaitu $2,22 \times 10^4$ CFU/mL.

Hasil pengamatan morfologi sel, pewarnaan Gram dan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 4, tabel 5 dan tabel 6.

Tabel 4. Hasil pengujian dan identifikasi bakteri pada media agar darah

No	Kode Sampel	Pengujian yang dilakukan														Hasil Identifikasi
		Bentuk Sel	Hemolisis	Pewarnaan Gram	Katalase	Oksidase	VP	Gas CO2 dari glukosa	Indol	Koagulase	Fermentasi Glukosa	Fermentasi Laktosa	Fermentasi Sorbitol	Fermentasi Mannitol	Fermentasi Inulin	
1	S1.D1	Cocobacili berantai	γ	Gram positif	negatif	negatif	negatif	negatif	negatif	-	positif	positif	negatif	negatif	positif	<i>Lactobacillus sp</i>
2	S1.D2	Basil berantai	γ	Gram positif	negatif	negatif	positif	negatif	negatif	-	positif	negatif	negatif	negatif	negatif	<i>Lactobacillus sp</i>
3	S1.D3	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	negatif	negatif	negatif	negatif	positif	positif	negatif	negatif	positif	negatif	<i>Staphylococcus intermedius</i>
4	S1.D4	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	positif	negatif	negatif	negatif	negatif	positif	negatif	negatif	negatif	negatif	<i>Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS)</i>
5	S2.D1	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	negatif	positif	negatif	negatif	positif	positif	negatif	positif	positif	positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
6	S3.D1	bulat bergerombol seperti anggur	β	Gram positif	positif	negatif	positif	negatif	negatif	positi	positif	negatif	positif	positif	positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
7	S3.D2	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	negatif	negatif	negatif	negatif	positif	positif	negatif	positif	positif	positif	<i>Staphylococcus intermedius</i>
8	S4.D1	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	positif	positif	negatif	negatif	positif	positif	positif	positif	negatif	positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
9	S4.D2	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	negatif	positif	negatif	negatif	positif	positif	positif	negatif	positif	negatif	<i>Staphylococcus aureus</i>
10	S5.D1	bulat bergerombol seperti anggur	γ	Gram positif	positif	negatif	positif	Negative	negatif	positif	positif	positif	positif	positif	positif	<i>Staphylococcus aureus</i>

Keterangan: S1.D1 : Sampel 1 koloni 1, S1.D2 : Sampel 1 koloni 2, S1.D3 : Sampel 1 koloni 3, S1.D4 : Sampel 1 koloni 4, S2.D1 : Sampel 2 koloni 1, S3.D1 : Sampel 3 koloni 1, S3.D2 : Sampel 3 koloni 2, S4.D1 : Sampel 1 koloni 1, S4.D2 : Sampel 4 koloni 2, S5.D1 : Sampel 5 koloni 1. (Sumber : Data primer yang diolah, 2020)

Tabel 5. Hasil pengujian dan Identifikasi pada media MSA										
Kode Sampel	Pengujian yang dilakukan									Hasil Identifikasi
	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram	Katalase	Oksidase	Koagulase	Voges Proskauer (VP)	Fermentasi Glukosa	Fermentasi Laktosa	Fermentasi Mannitol	
S1.M1	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	positif	negatif	positif	negatif	positif	<i>Staphylococcus intermedius</i>
S1.M2	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	positif lemah	negatif	positif	negatif	positif	<i>Staphylococcus intermedius</i>
S2.M1	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	negatif	negatif	positif	negatif	positif	<i>Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS)</i>
S3.M1	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	negatif	positif	positif	negatif	positif	<i>Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS)</i>
S3.M2	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	positif lemah	negatif	positif	negatif	positif	<i>Staphylococcus intermedius</i>
S4.M1	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	positif lemah	positif	positif	negatif	positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
S5.M1	bulat, bergerombol seperti anggur	Gram positif	positif	negatif	positif	positif	positif	negatif	positif	<i>Staphylococcus aureus</i>

Keterangan: S1.M1 : Sampel 1 koloni 1, S1.M2 : Sampel 1 koloni 2, S2.M1 : Sampel 2 koloni 1, S3.M1 : Sampel 3 koloni 1, S3.M2 : Sampel 3 koloni 2, S4.M1 : Sampel 4 koloni 1, S5.M1: Sampel 5 koloni 1. (Sumber : Data primer yang diolah, 2020)

Berdasarkan Tabel 4, terdapat 2 isolat yang diidentifikasi sebagai *Lactobacillus* sp dengan karakteristik berbentuk cocobasil berantai pada isolat S1.D1 dan berbentuk batang berantai pada isolat S1.D2. Kedua isolat tersebut menunjukkan hasil positif pada pewarnaan Gram dan fermentasi glukosa, sedangkan menunjukkan hasil negatif pada uji katalase, oksidase, VP dan indol. Dua isolat diantaranya diduga sebagai *Staphylococcus intermedius* dengan karakteristik berbentuk bulat bergerombol seperti anggur, hasil pewarnaan Gram positif, uji katalase positif, uji koagulase positif dan uji VP negatif yaitu pada isolat S1.D3 dan S3.D1. Terdapat 5 isolat yang diduga sebagai *Staphylococcus aureus* dengan karakteristik berbentuk bulat bergerombol seperti anggur, menunjukkan hasil positif pada pewarnaan Gram, uji katalase, koagulase, VP dan fermentasi mannitol yaitu pada isolat S2.D1, S3.D1, S4.D1, S4.D2 dan S5.D1. Satu isolat diantaranya diduga sebagai *Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS)* dengan karakteristik berbentuk bulat bergerombol seperti anggur, menunjukkan hasil positif pada pewarnaan Gram dan uji katalase serta menunjukkan hasil negatif pada uji koagulase yaitu pada isolat S1.D4.

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan semua isolat yang ditumbuhkan pada media MSA merupakan *Staphylococcus* sp. Isolat yang dihasilkan mempunyai karakteristik berbentuk bulat bergerombol seperti anggur, menunjukkan hasil positif pada pewarnaan Gram dan uji katalase, dan menunjukkan hasil negatif pada uji oksidase. Hasil pengamatan dan pengujian ini sesuai dengan karakteristik bakteri *Staphylococcus* sp. Terdapat 2 isolat yang diduga sebagai *Staphylococcus aureus* yaitu isolat yang menunjukkan hasil positif pada uji koagulase, VP, fermentasi glukosa dan mannitol pada isolat S4.M1 dan S5.M1. Terdapat 3 isolat yang diduga sebagai *Staphylococcus intermedius* dengan hasil koagulase positif, uji VP negatif, fermentasi glukosa positif dan fermentasi mannitol positif yaitu pada isolat S1.M1, S1.M2 dan S3.M1. Sedangkan 2 isolat lainnya diduga sebagai *Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS)* dikarenakan menunjukkan hasil negatif pada uji koagulase yaitu pada isolat S2.M1 dan S3.M1.

Tabel 6. Hasil Pengujian dan Identifikasi pada media MRSA										
Kode Sampel	Pengujian yang dilakukan									Hasil Identifikasi
	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram	Katalase	Oksidase	Gas CO ₂ dari Glukosa	Pertumbuhan pada 45°C	Fermentasi Glukosa	Fermentasi Laktosa	Fermentasi Mannitol	
S1.L1	batang rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	positif	positif	positif	positif	positif	<i>Lactobacillus sp</i>
S1.L2	batang rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	negatif	positif	positif	positif	positif	<i>Lactobacillus sp</i>
S2.L1	batang rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	positif	positif	positif	positif	positif	<i>Lactobacillus sp</i>
S3.L1	cocobasil rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	positif	negatif	negatif	negatif	negatif	<i>Lactobacillales</i> Gram positif.
S3.L2	batang rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	negatif	negatif	negatif	negatif	negatif	<i>Lactobacillales</i> Gram positif.
S4.L1	batang rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	negatif	negatif	positif	negatif	positif	<i>Lactobacillus sp</i>
S5.L1	batang rantai pendek	Gram positif	negatif	negatif	negatif	positif	positif	positif	positif	<i>Lactobacillus sp</i>

Keterangan: S1.L1 : Sampel 1 koloni 1, S1.L2 : Sampel 1 koloni 2, S2.L1 : Sampel 2 koloni 1, S3.L1 : Sampel 3 koloni 1, S3.L2 : Sampel 3 koloni 2, S4.L1 : Sampel 4 koloni 1, S5.L1: Sampel 5 koloni 1. (Sumber : Data primer yang diolah, 2020)

Berdasarkan Tabel 6, terdapat 6 isolat bakteri berbentuk batang rantai pendek dan 1 isolat bakteri berbentuk cocobasil rantai pendek dengan hasil pewarnaan Gram positif sehingga 7 isolat bakteri yang tumbuh pada media MRSA dapat diidentifikasi sebagai bakteri asam laktat/*Lactobacillales* Gram positif. Media MRSA merupakan media selektif untuk bakteri asam laktat/*Lactobacillales*. Lima isolat bakteri diantaranya diidentifikasi sebagai bakteri *Lactobacillus sp* dengan karakteristik berbentuk batang rantai pendek, menunjukkan hasil positif pada pewarnaan Gram, fermentasi glukosa dan mannitol, sedangkan pada uji katalase dan uji oksidase menunjukkan hasil negatif. Lima isolat tersebut adalah isolat S1.L2, S1.L2, S2.L1, S4.L1 dan S5.L1.

Tabel 7. Persentase bakteri kariogenik dari karies pada pasien di RSGM

Bakteri	n	Persentase (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	80
<i>Staphylococcus intermedius</i>	2	40
<i>Coagulase Negative Staphylococcus</i> (CoNS)	3	60
<i>Lactobacillus sp</i>	4	80
<i>Lactobacillales</i> Gram positif	1	20

Berdasarkan Tabel 7, dapat diketahui jenis bakteri yang diidentifikasi dari sampel karies adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Coagulase Negative Staphylococcus* (CoNS), *Lactobacillus sp.* dan *Lactobacillales* Gram positif. *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus sp.* menjadi jenis bakteri yang paling sering ditemukan pada penelitian ini yaitu sebanyak 80% atau 4 dari 5 sampel karies yang diambil dari pasien.

PEMBAHASAN

Banyaknya keragaman morfologi koloni yang berhasil dikultur dari karies menunjukkan keanekaragaman mikroorganisme yang ada di dalam rongga mulut yang kemungkinan besar berperan dalam terjadinya karies gigi.⁵ Berdasarkan penelitian metagenomik terdapat lebih dari 700 spesies bakteri di dalam rongga mulut, tetapi hanya sebagian kecil yang dapat dikultur secara konvensional.⁹ Interaksi antara bakteri dalam plak gigi dengan nutrisi (diet karbohidrat), fluoride dan pH dalam saliva menentukan terbentuknya lesi karies. Pembentukan biofilm pada plak gigi merupakan faktor penting dalam etiologi karies.⁴

Bakteri penyebab karies merupakan flora normal rongga mulut yang bersifat komensal dan patogen oportunistik. Bakteri tersebut akan menunjukkan patogenitasnya dalam kondisi lingkungan tertentu. Lingkungan tertentu (misalnya tinggi karbohidrat, aliran saliva rendah) memicu dominasi lokal/ *Streptococcus mutans* dan sering melibatkan *Lactobacillus sp* diikuti dengan proses demineralisasi email dan kavitasi. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang paling signifikan sebagai penyebab karies.⁴ Bakteri *Streptococcus mutans* membentuk plak gigi dengan bakteri kariogenik lainnya yang diantaranya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang juga merupakan bakteri kokus Gram positif.⁶ Untuk itu, manipulasi bakteri pada penelitian ini diarahkan pada bakteri yang dominan ditemukan pada karies yaitu *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus sp.*

Sampel penelitian ini dikultur dalam media agar darah, MSA, dan MRSA. Media agar darah merupakan salah satu media diperkaya yang memungkinkan pertumbuhan bakteri yang diisolasi baik tanpa adanya zat-zat penghambat pertumbuhan bakteri.¹⁰ Hasil kultur dari media agar darah didapatkan bakteri *Staphylococcus sp.*, sedangkan *Streptococcus sp.* tidak ditemukan. Hasil uji katalase dapat digunakan untuk membedakan bakteri golongan *Streptococcus* dengan *Staphylococcus*.⁸ Uji katalase terhadap isolat bakteri *Staphylococcus* menunjukkan hasil negatif atau tidak terbentuknya gelembung yang mengindikasikan bahwa bakteri *Staphylococcus* tidak memproduksi enzim katalase sehingga tidak dapat menguraikan H₂O₂ menjadi air dan O₂. Uji koagulasi dan fermentasi mannitol merupakan uji yang digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus sp* yang lain. Hasil uji koagulasi pada *Staphylococcus aureus* adalah positif yang menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki enzim koagulasi yang dapat menggumpalkan plasma melalui aktivasi prothrombin.¹¹ Berdasarkan Tabel 5, semua isolat yang ditumbuhkan pada media MSA merupakan *Staphylococcus sp.* Media MSA merupakan media selektif yang digunakan untuk isolasi *Staphylococcus*.⁸ Isolat yang dihasilkan mempunyai karakteristik berbentuk bulat bergerombol seperti anggur, menunjukkan hasil positif pada pewarnaan Gram dan uji katalase, dan menunjukkan hasil negatif pada uji oksidase. Hasil pengamatan dan pengujian ini sesuai dengan karakteristik bakteri *Staphylococcus sp.*⁴

Berdasarkan tabel 7, penelitian ini berhasil mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 80% dari total sampel. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang berhasil mengisolasi *Staphylococcus aureus* dari infeksi gigi tetapi dengan persentase yang berbeda. Persentase bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian sebelumnya yaitu 62,4%.¹² Persentase bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian sebelumnya yang mengisolasi *Staphylococcus sp* pada rongga mulut yaitu 46,4% dan persentase bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian sebelumnya yang mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada rongga mulut dengan infeksi periodontal yaitu 36,6%.^{13,14} *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal di dalam rongga mulut dan bersifat oportunistik yang dalam kondisi tertentu dapat berubah menjadi patogen utama penyebab karies gigi.¹⁵

Berdasarkan tabel 7, bakteri genus *Staphylococcus* lainnya yang teridentifikasi pada penelitian ini adalah *Staphylococcus intermedius*. Bakteri ini merupakan bakteri *Staphylococcus* koagulasi positif seperti halnya *Staphylococcus aureus*. Persentase bakteri *Staphylococcus intermedius* cukup tinggi yaitu 40% dari sampel penderita karies. Hasil ini sedikit berbeda dari penelitian sebelumnya yang menunjukkan persentase *Staphylococcus intermedius* baik pada sampel plak gigi maupun saliva sangat sedikit. Perbedaan persentase *Staphylococcus intermedius* antara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya oleh Ohara-Nemoto *et al*¹³ dikarenakan perbedaan jumlah sampel yang cukup jauh. Jumlah sampel pada penelitian sebelumnya sebanyak 56, sedangkan jumlah

sampel pada penelitian ini hanya 5. Sampel yang didapatkan pada penelitian ini cukup sedikit karena penelitian dilakukan pada masa pandemi Covid-19 sehingga tidak banyak pasien yang berkunjung ke rumah sakit.

Berdasarkan tabel 7, penelitian ini mengidentifikasi bakteri CoNS sebanyak 60% dari total sampel. Bakteri CoNS merupakan bakteri yang dapat ditemukan pada kulit, namun juga dapat ditemukan pada permukaan mukosa oral, saliva, dan poket periodontal terutama pada pasien penerima terapi *hematopoietic stem cell transplantation*.¹⁶ Beberapa jenis bakteri CoNS seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, dan *Staphylococcus lugdunensis* juga dilaporkan memiliki kaitan dengan masalah kesehatan pada manusia.¹⁷ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Staphylococcus epidermidis* teridentifikasi pada plak gigi maupun saliva dengan persentase yang tinggi seperti halnya *Staphylococcus aureus*. Bakteri CoNS lain yang teridentifikasi pada penelitian sebelumnya adalah *Staphylococcus lugdunensis*, tetapi persentasenya sangat rendah.¹³ Spesies bakteri CoNS yang didapatkan pada penelitian ini belum diketahui.

Selain genus *Staphylococcus*, pada penelitian ini juga ditemukan bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus sp.* dan ordo *Lactobacillales*. Hal ini dapat dilihat pada tabel 6. Pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bakteri asam laktat berbentuk batang rantai pendek ataupun coccobasil rantai pendek. *Lactobacillus sp.* diklasifikasikan sebagai bakteri asam laktat karena mampu mengubah karbohidrat dan substrat gula lainnya menjadi asam laktat dan bertahan dalam lingkungan dengan pH rendah.^{5,18}

Berdasarkan Tabel 7, bakteri *Lactobacillus sp.* berhasil diidentifikasi sebanyak 80%. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang berhasil mengidentifikasi *Lactobacillus sp.* pada karies gigi anak-anak. Penelitian sebelumnya berhasil mengidentifikasi 5 spesies yaitu *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum* dan *L. fermentum* dari karies gigi anak-anak.¹⁸ *Lactobacillus* merupakan flora normal dominan di rongga mulut. *Lactobacillus* mulai muncul di rongga mulut pada tahun pertama kehidupan seorang anak. *Lactobacillus* ditemukan pada saliva, punggung lidah dan plak gigi dalam jumlah yang tinggi, serta ditemukan di permukaan gigi tetapi dalam jumlah yang lebih sedikit.¹⁹ Bakteri *Lactobacillus* dianggap sebagai bakteri yang memperburuk karies gigi pada permukaan email menjadi karies dentin. Bakteri *Lactobacillus sp.* menetap pada kavitas yang dalam dan berkorelasi dengan jumlah karbohidrat.¹

Lactobacillales merupakan ordo bakteri yang memiliki ciri Gram positif, biasanya tidak menghasilkan spora, dapat berbentuk batang atau kokus, tahan asam dan dapat menghasilkan asam laktat dari metabolisme karbohidrat.⁴ Kemampuan ordo bakteri ini dalam menghasilkan asam laktat menjadikan perubahan pada lingkungan normal rongga mulut menjadi asam. Hal ini menyebabkan demineralisasi komponen pada gigi.²⁰ Beberapa genus yang termasuk dalam ordo *Lactobacillales* adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Sporolactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella* pada penelitian ini, belum dapat teridentifikasi hingga tingkat genus (kecuali genus *Lactobacillus*) maupun spesies. Genus penting *Lactobacillales* yang berkaitan erat dengan karies gigi adalah *Lactobacillus* dan *Streptococcus*.²⁰ Penelitian ini belum dapat mengidentifikasi bakteri *Streptococcus*. Hal ini mungkin dikarenakan pengambilan sampel pada karies yang dalam atau karies dentin, sedangkan berdasarkan studi kepustakaan *Streptococcus mutans* merupakan pencetus atau agen utama pada karies email.¹ Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa tidak menemukan adanya *Streptococcus mutans* pada karies anak-anak tetapi berhasil mengisolasi *Streptococcus* spesies lainnya yaitu *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, dan *Streptococcus parasanguini*.⁹ Hasil penelitian lainnya oleh Viera dkk¹⁵ juga menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* tidak ditemukan pada sampel karies. Penelitian tersebut mendeteksi mikroorganisme pada pasien anak dengan dan tanpa karies gigi melaporkan ditemukan bakteri *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus infantis*, dan *Streptococcus parasanguini* tetapi tidak mendeteksi adanya *Streptococcus mutans*. Perbedaan hasil penelitian ini mungkin dikarenakan perbedaan metode yang digunakan dan keterbatasan kultur secara konvensional sehingga mungkin bakteri tersebut ada meskipun tidak terdeteksi.

SIMPULAN

Isolasi dan karakterisasi bakteri kariogenik pada pasien pulpitis didapatkan beberapa jenis bakteri antara lain *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Coagulase Negative Staphylococcus* (CoNS), *Lactobacillus sp.* dan *Lactobacillales* Gram positif yang diisolasi dari karies gigi. Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri yang paling sering ditemukan pada sampel karies gigi adalah *Staphylococcus aureus* dan *Lactobacillus sp.*

Ucapan terima kasih: Penulis mengucapkan terima kasih pada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Soedirman yang telah mendanai penelitian ini.

Kontribusi Penulis: Konseptualisasi, WS. dan HE.; metodologi, WS. dan HE.; perangkat lunak, HE.; validasi, WS. dan HE.; analisis formal, WS. dan HE.; investigasi, HE.; sumber daya, WS. dan HE.; kurasi data, WS. dan HE.; penulisan penyusunan draft awal, WS. dan HE.; penulisan tinjauan dan penyuntingan, WS.; visualisasi, HE.; supervisi, WS.; administrasi proyek, HE.; perolehan pendanaan, HE. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar.

Persetujuan Etik: Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan deklarasi Helsinki, dan telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto dengan Surat Pemberitahuan Telaah Exempted Nomor: 183/KEPK/VIII/2020 tanggal 18 Agustus 2020.

Pernyataan Persetujuan (Informed Consent Statement): Tidak berlaku karena penelitian tidak melibatkan manusia atau hewan.

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian akan diberikan seizin semua peneliti melalui email korespondensi dengan memerhatikan etika dalam penelitian.

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yadav K, Prakash S. Dental caries: a microbiological approach. *J Clin Infect Dis Pract* 2017;2(1):1-15. DOI: [10.4172/2476-213X.1000118](https://doi.org/10.4172/2476-213X.1000118)
2. Kemenkes RI. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2019. h. 182.
3. Kemenkes RI. Laporan Provinsi Jawa Tengah Riskesdas 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2019. h. 167.
4. Marsh PD, Lewis MAO, Rogers H, Williams DW, Wilson M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. 6th ed. Edinburgh: Elsevier; 2016. p. 1–115.
5. Awadh Al-Shahrani M. Microbiology of Dental Caries: A Literature Review. *Ann Med Health Sci Res*. 2019;9(4):655–9.
6. Chenicheri S, R U, Ramachandran R, Thomas V, Wood A. Insight into oral biofilm: primary, secondary and residual caries and phyto-challenged solutions. *Open Dent J*. 2017;11(1):312–33. DOI: [10.2174/1874210601711010312](https://doi.org/10.2174/1874210601711010312)
7. Lamont RJ, Hajishengallis GN, Koo H (Michel), Jenkinson HF. Oral microbiology and immunology. 3rd ed. Washington DC: ASM Press; 2019. p. 3–27.
8. Murray PR, Rosenthal KS, Michael A. Pfaller. Medical Microbiology 9th ed. Edinburgh: Elsevier; 2021. p. 178–179.
9. Alshaya HK, Alogla SA, Alshammari KSG, Nazareno CL, AlJameel MAS, Hossain A. Isolation and characterisation of bacterial species from patients with dental caries and caries-free subjects. *J Pharm Biomed Sci*. 2016;(April):2–6. DOI: [10.4172/2332-0877-C1-027](https://doi.org/10.4172/2332-0877-C1-027)
10. Moraes GFQ, Cordeiro LV, de Andrade Júnior FP. Main laboratory methods used for the isolation and identification of Staphylococcus spp. *Rev Colomb Ciencias Quim*. 2021;50(1):5–28. DOI: [10.15446/rcciquifa.v50n1.95444](https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n1.95444)
11. Maza LM de la, Pezzlo MT, Bittencourt CE, Peterson EM. Color atlas of medical bacteriology 3rd ed Washington DC: ASM Press; 2020. p. 1–23.
12. Manisha D, Abdullah AMS, Zobayda FH, Nanda B, Amrita P, Md. MM, et al. Characterization of Staphylococcus aureus isolated from human dental infection. *African J Microbiol Res* 2019;13(14):273–8.
13. Ohara-Nemoto Y, Haraga H, Kimura S, Nemoto TK. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal-oral trafficking of the bacteria. *J Med Microbiol*. 2008;57(1):95–9. DOI: [10.1099/jmm.0.47561-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.47561-0)
14. Kim GY, Lee CH. Antimicrobial susceptibility and pathogenic genes of Staphylococcus aureus isolated from the oral cavity of patients with periodontitis. *J Periodontal Implant Sci*. 2015;45(6):223–8. DOI: [10.5051/jpis.2015.45.6.223](https://doi.org/10.5051/jpis.2015.45.6.223)
15. Vieira AR, Hiller NL, Powell E, Kim LHJ, Spirk T, Modesto A, et al. Profiling microorganisms in whole saliva of children with and without dental caries. *Clin Exp Dent Res*. 2019;5(4):438–46. DOI: [10.1002/cre2.206](https://doi.org/10.1002/cre2.206)
16. Raber-Durlacher JE, Laheij AMGA, Epstein JB, Epstein M, Geerligs GM, Wolffe GN, et al. Periodontal status and bacteremia with oral viridans streptococci and coagulase negative staphylococci in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients: A prospective observational study. *Support Care Cancer*. 2013; 21(6):1621–7. DOI: [10.1007/s00520-012-1706-2](https://doi.org/10.1007/s00520-012-1706-2)
17. Argemi X, Hansmann Y, Prola K, Prévost G. Coagulase-negative staphylococci pathogenomics. *Int J Mol Sci* 2019;20(5):1–19. DOI: [10.3390/ijms20051215](https://doi.org/10.3390/ijms20051215)
18. Ahirwar SS, Gupta MK, Gupta G, Singh V. Screening, Isolation and Identification of Lactobacillus Species from Dental Caries of Children. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2017;6(1):497–503. DOI: [10.20546/ijcmas.2017.601.059](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.601.059)
19. Badet C, Thebaud NB. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature. *Open Microbiol J*. 2008;2(1):38–48. DOI: [10.2174/1874285800802010038](https://doi.org/10.2174/1874285800802010038)
20. Caufield PW, Schön CN, Saraithong P, Li Y, Argimón S. Oral lactobacilli and dental caries: a model for niche adaptation in humans. *J Dent Res* 2015; 94(March): 110S–118S. DOI: [10.1177/0022034515576052](https://doi.org/10.1177/0022034515576052)