

PENGARUH BAHAN ANTIKARIES BEBERAPA TANAMAN HERBAL YANG DIKOMBINASI DENGAN PASTA GIGI YANG MENGANDUNG FLUORIDE TERHADAP PERTUMBUHAN STREPTOCOCCUS MUTANS SECARA IN VITRO

(ANTICARIES EFFECT OF SOME HERBAL PLANTS COMBINED WITH FLUORIDE TOOTH PASTE ON THE GROWTH OF STREPTOCOCCUS MUTANS)

Santi Chismirina, Sri Rezeki, Cut Reinilda Rischa

Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran
Universitas Syiah Kuala, Darussalam Banda Aceh
Jl. Tgk. Tanoh Abe, Sektor Selatan, Kopelma Darussalam
Email : chismirina05@yahoo.co.id

Abstract

Dental caries is the most commonly oral disease and the main bacterial cause of it is *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Fluoride, xylitol, betel leaf and siwak are the substances often found in toothpaste. The effect of them inhibits the growth of *S. mutans*. The purpose of this study was to determine the effect of herbal plants such as xylitol, betel leaf and siwak that combined with fluoride in toothpaste on the growth of *S. mutans* (*in vitro*). *S. mutans* laboratory strain was exposed to three toothpastes that contained combination of fluoride and each of herbal plants such as xylitol, siwak, and betel leaf. This study also used non herbal toothpaste as a control. The results of ANOVA test on *S. mutans* colonies growth in media TYS20B showed that there was significant difference ($p < 0.05$) between the types of herbals contained of fluoride toothpaste in reducing the number of *S. mutans* colonies. Duncan test showed that combination of fluoride and siwak was significant difference from others. It showed that toothpaste containing fluoride and siwak with the average number of *S. mutans* colonies of 23.44 CFU/ml, 31 CFU/ml toothpaste containing fluoride and betel leaf. The smallest influence was found in toothpaste that contained fluoride and xylitol with the average number of colonies of *S. mutans* is 32.67 CFU/ml. It was concluded that combination of fluoride and siwak in toothpaste has a higher effect in decreasing *S. mutans* colonies growth. This is apparently due to the function of isothiocyanate, flavonoid and tannin in siwak as anti-microbial, besides the existence of fluoride in siwak is also suspected to increase the effectiveness of toothpastes containing fluoride. As conclusion, additional of herbal plants such as xylitol, betel leaf and siwak in toothpaste that contained combination of fluoride increase the effect of toothpaste inhibit *S. mutans* colonies growth compared to toothpaste that only contained fluoride.

Key words : toothpaste, *Streptococcus mutans*, fluoride, herbal plant

PENDAHULUAN

Penyakit rongga mulut yang paling sering ditemukan di masyarakat adalah karies. Penyakit ini dapat terjadi pada setiap strata sosial masyarakat Indonesia dan dapat terjadi pada laki-laki serta perempuan yang berumur dewasa maupun anak-anak.¹ Hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004 yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI) menyatakan bahwa prevalensi karies gigi mencapai 90,05% dan menempati peringkat ke-6 sebagai penyakit yang paling banyak diderita.²

Karies gigi didefinisikan sebagai suatu kerusakan jaringan keras gigi yang terlokalisir akibat aktivitas bakteri yang dapat memfermentasi karbohidrat.³ Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bakteri utama penyebab karies adalah *Streptococcus mutans* (*S. mutans*).^{4,6} Berbagai upaya dilakukan untuk mencegah terjadinya karies, salah satunya dengan menganjurkan menyikat gigi dengan pasta gigi secara teratur.⁷

Di pasaran, banyak ditemukan pasta gigi yang berfungsi untuk mencegah karies dan menawarkan keunggulannya masing-masing. Kandungan yang sering ditemukan dalam pasta gigi adalah *fluoride*.

Saat ini, banyak beredar pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan penambahan bahan antikaries lainnya dari tanaman herbal seperti *xylitol*, daun sirih dan siwak. Tujuan pengkombinasian ini adalah agar efek masing-masing bahan tersebut dapat saling melengkapi, sehingga proses terjadinya karies dapat dicegah.^{7,8} Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa *fluoride* dapat mempengaruhi aktivitas *Streptococci* yang bersifat kariogenik dengan cara menghambat produksi asam dan *glucosyltransferase* (Gtf) sedangkan *xylitol* dapat mengurangi kemampuan perlekatan *S.mutans* dan membuatnya lebih mudah terlepas dari plak. Sementara itu, dari hasil penelitian tentang efek tanaman herbal terhadap karies diketahui bahwa ekstrak daun sirih dapat menghambat pertumbuhan dan perlekatan *S. mutans* pada permukaan gigi.^{4,9,10} Beberapa peneliti juga melaporkan adanya efek anti bakteri siwak terhadap bakteri kariogenik yang dapat menghambat pembentukan plak.¹¹

Uraian di atas menunjukkan bahwa bahan herbal yaitu *xylitol*, daun sirih dan siwak mempunyai keunggulannya masing-masing dalam mencegah terjadinya karies. Berdasarkan informasi tersebut peneliti tertarik melakukan penelitian untuk melihat ada tidaknya pengaruh bahan antikaries beberapa tanaman herbal dalam pasta gigi yang mengandung *fluoride* terhadap pertumbuhan koloni *S.mutans* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang bersifat eksperimental laboratoris ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Unsyiah. Tahapan pertama dalam penelitian ini adalah pengkulturan *Streptococcus mutans* pada media selektif yaitu *Trypticase Soy with Sucrose and Bacitracin* (TYS-20B). *Streptococcus mutans* yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Proses kultur ini dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C dalam *anaerobic jar* yang diinkubasi dalam inkubator. Bakteri yang tumbuh dibuat suspensi dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni ke dalam 5 ml *Trypticase Soy Both* (TSB), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, suspensi *S. mutans* tersebut dibuat setara dengan larutan standar Mc Farland 0,5 dengan membandingkan kekeruhannya.¹¹

Sampel terdiri atas 12 tabung reaksi yang dibagi menjadi 4 kelompok sesuai dengan pasta gigi yang digunakan, sehingga masing-masing kelompok terdiri atas 3 tabung. Setiap tabung diisi dengan 1 ml suspensi *S. mutans*. Tabung pada kelompok A di-

tambahkan dengan 1 ml pasta gigi yang mengandung *sodium monofluorophosphate* dan *xylitol*, kelompok B digunakan pasta gigi yang mengandung *sodium monofluorophosphate* dan daun sirih, kelompok C digunakan pasta gigi yang mengandung *sodium monofluorophosphate* dan siwak dan kelompok D sebagai pasta gigi kontrol yang hanya mengandung *sodium monofluorophosphate*. Semua tabung dikocok terlebih dahulu agar larutan yang ada di dalam tabung menjadi homogen. Selanjutnya, masing-masing tabung diambil 50 µl untuk ditanam pada media TYS20B dalam cawan petri dengan cara diteteskan dan cawan petri tersebut diberi tanda sama seperti pada tabung. Hasil inokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dalam *anaerobic jar* untuk proses pembiakan. Jumlah koloni *S.mutans* yang tumbuh pada setiap media dihitung dengan *Colony counter*.

Untuk menguji pengaruh pasta gigi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dilakukan dengan teknik *Plate Count Counter* yaitu dengan menghitung jumlah koloni *S.mutans* yang tumbuh pada setiap cawan Petri, dan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Data dianalisis dengan menggunakan Analisis Varians (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5%. Uji Duncan ini dilakukan untuk membandingkan hasil yang diperoleh pada tiap perlakuan.

HASIL

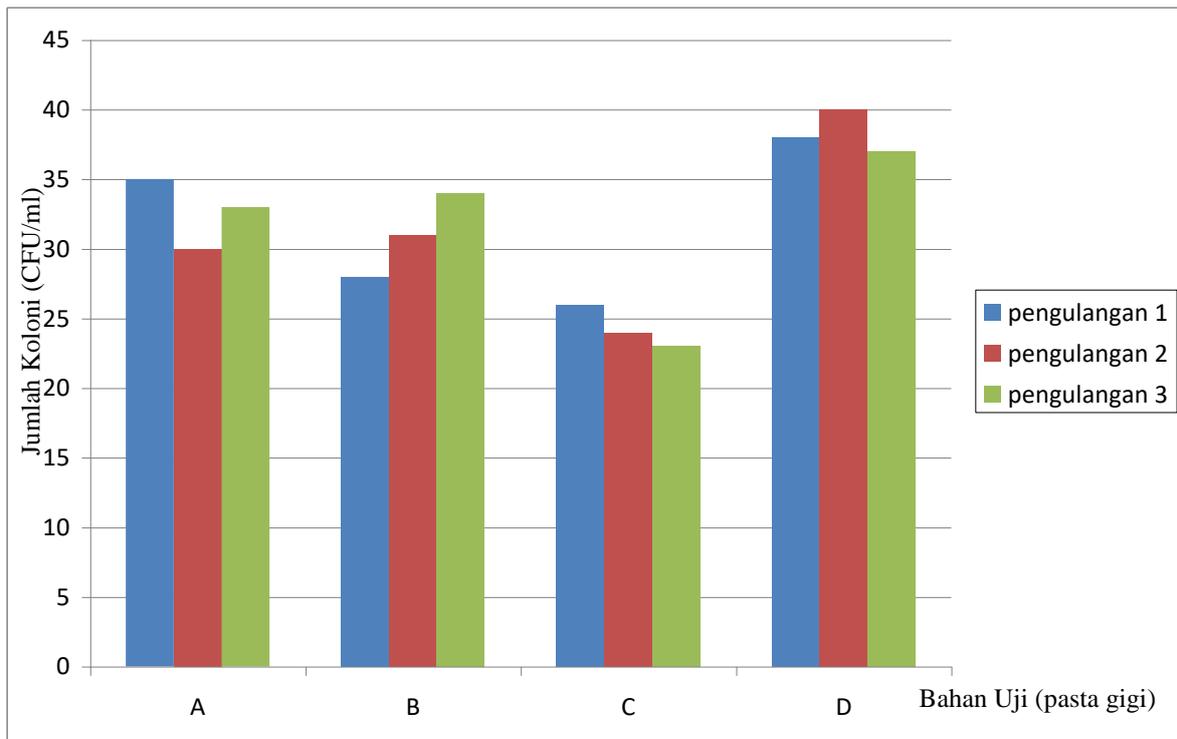
Hasil penelitian menunjukkan jumlah koloni *S. mutans* yang dipaparkan dengan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan *xylitol* pada perlakuan pertama adalah 35 CFU/ml. Nilai ini lebih tinggi dari jumlah koloni *S. mutans* yang dipaparkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan daun sirih serta *fluoride* dan siwak yang nilainya berturut-turut 28 dan 26 CFU/ml, namun masih lebih rendah dari jumlah koloni *S.mutans* yang dipaparkan pasta gigi kontrol yaitu 38 CFU/ml. Pada pengulangan kedua dan ketiga, jumlah koloni *S.mutans* yang dipaparkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan daun sirih lebih tinggi yaitu 31 dan 34 CFU/ml jika dibandingkan pasta gigi *fluoride* dan *xylitol* yang berjumlah 30 dan 33 CFU/ml dan pasta gigi *fluoride* dan siwak yaitu 23 dan 24 CFU/ml. Nilai ini juga masih lebih rendah dibandingkan jumlah koloni *S.mutans* yang dipaparkan dengan pasta gigi kontrol yaitu 40 dan 37 CFU/ml (Gambar1).

Rerata jumlah koloni *S. mutans* yang tumbuh setelah dipaparkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan *xylitol* yaitu 32,67 CFU/ml, pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan daun sirih yaitu 31 CFU/ml dan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan siwak

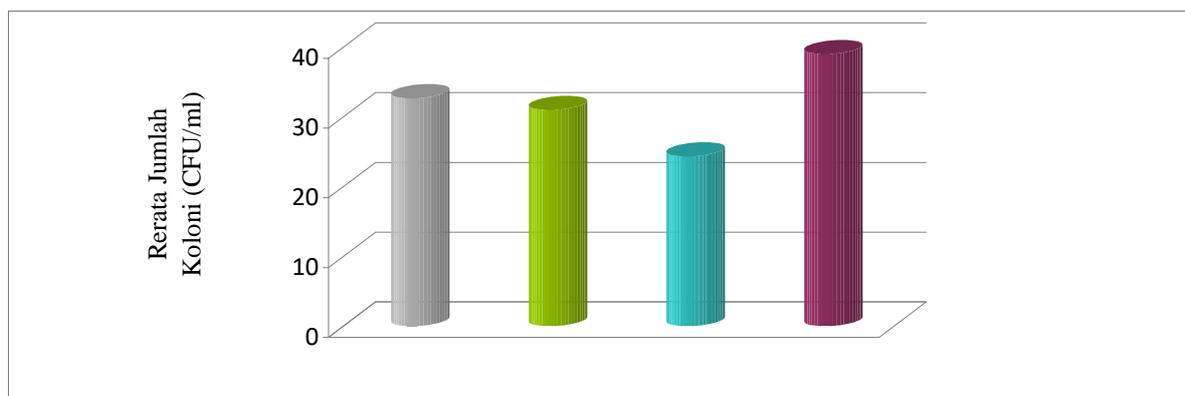
yaitu 24,33 CFU/ml sedangkan pasta gigi kontrol berjumlah 39 CFU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa rerata jumlah koloni *S.mutans* setelah dipaparkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan siwak lebih sedikit dibandingkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan penambahan bahan herbal lain seperti *xylitol* dan daun sirih serta pasta gigi kontrol. Rerata jumlah koloni *S.mutans* setelah dipaparkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan daun sirih lebih sedikit dibandingkan dengan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan *xylitol* serta pasta gigi kontrol, sedangkan yang terbanyak terdapat pada rerata jumlah koloni *S.mutans* setelah dipaparkan pas-

ta gigi kontrol (Gambar 2).

Berdasarkan hasil uji homogenitas diketahui nilai $p>0,05$ yang berarti bahwa keempat varian sama (homogen). Hasil uji ANOVA menunjukkan ada pengaruh pasta gigi yang signifikan dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S.mutans*. Sementara itu, hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan siwak mempunyai perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan masing-masing bahan herbal yaitu daun sirih dan *xylitol* serta pasta gigi kontrol.



Gambar 1. Pengaruh pasta gigi terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada tiga kali pengulangan. A. Pasta gigi *fluoride* dan *xylitol*; B. Pasta gigi *fluoride* dan daun sirih; C. Pasta gigi *fluoride* dan siwak dan D. Pasta gigi kontrol



Gambar 2. Rerata jumlah koloni *S. mutans* setelah dipaparkan masing-masing pasta gigi. A. Pasta gigi *fluoride* dan *xylitol*; B. Pasta gigi *fluoride* dan daun sirih; C. Pasta gigi *fluoride* dan siwak dan D. Pasta gigi kontrol

PEMBAHASAN

Salah satu upaya pencegahan karies gigi adalah menyikat gigi dengan menggunakan pasta gigi yang mengandung *fluoride* secara teratur.^{11,12} Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, produsen pasta gigi membuat inovasi untuk menambahkan bahan lain dalam pasta gigi dengan tujuan meningkatkan kemampuan kerja pasta gigi dalam mencegah terjadinya karies. Salah satu bahan yang aman digunakan dalam pasta gigi adalah bahan herbal.^{11,13} Bahan herbal yang terdapat dalam pasta gigi yang mengandung *fluoride* ini secara teori telah dibuktikan dapat menekan pertumbuhan *S.mutans*.^{11,14}

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan siwak memiliki pengaruh yang lebih tinggi dalam menurunkan jumlah pertumbuhan *S. mutans* dibandingkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan penambahan bahan herbal lain yaitu *xylitol* dan daun sirih serta pasta gigi tanpa bahan herbal (kontrol). Sesuai dengan penelitian Almas yang menemukan bahwa anak-anak yang menggunakan pasta gigi yang mengandung siwak mengalami penurunan jumlah *S. mutans* lebih besar dibandingkan pasta gigi standar.¹⁴ Hal ini diduga terjadi karena pengaruh kandungan siwak seperti *isothiocyanate*, *fluoride*, *tannin* dan *flavonoid* terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.¹⁴⁻¹⁶

Isothiocyanate merupakan senyawa yang bersifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan jalan merusak dinding sel dan membran sitoplasma. Sitoplasma dibatasi oleh selaput yang berfungsi sebagai penghalang dengan permeabilitas aktif, melakukan fungsi transportasi aktif, dengan demikian mampu mengendalikan susunan dalam sel. Mekanisme kerja *isothiocyanate* akan mengganggu integritas fungsi selaput sitoplasma sehingga menyebabkan kerusakan atau kematian sel.^{15,16}

Flavonoid dan *tannin* merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia senyawa fenol. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa *flavonoid* dan *tannin* dapat menyebabkan rusaknya susunan dan mekanisme permeabilitas dinding sel bakteri akibat adanya perbedaan tekanan osmotik di mana tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel, maka sel bakteri akan mengalami lisis.^{1,10} Adanya *fluoride* yang terkandung dalam siwak juga diduga menambah efektivitas bahan herbal ini dalam menurunkan jumlah pertumbuhan *S.mutans*. *Fluoride* bekerja dengan cara menghambat metabolisme bakteri plak yang dapat memfermentasi karbohidrat melalui perubahan hidroksiapatit pada email menjadi fluorapatit yang lebih stabil

terutama bila terpapar asam.^{11,17,18} Adanya kombinasi beberapa bahan anti bakteri yang terkandung dalam siwak dengan *fluoride* yang terdapat dalam pasta gigi dapat meningkatkan efektivitas pasta gigi tersebut. Hal inilah yang menyebabkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan siwak mempunyai pengaruh yang lebih tinggi dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S.mutans* dibandingkan pasta gigi lainnya.^{10,12,13}

Hasil penelitian ini juga menunjukkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan daun sirih mempunyai pengaruh yang lebih tinggi dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S.mutans* dibandingkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan *xylitol* serta pasta gigi kontrol. Penelitian Prahasanti yang dilakukan pada 30 orang mahasiswa, menunjukkan bahwa pasta gigi yang mengandung ekstrak daun sirih lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.mutans* dibandingkan dengan pasta gigi tanpa ekstrak daun sirih.¹⁸ Adanya senyawa fenol yang terkandung dalam daun sirih mengakibatkan struktur tiga dimensi protein sel bakteri terganggu dan terbuka menjadi struktur acak tanpa adanya kerusakan pada struktur kerangka kovalen. Hal ini mengakibatkan protein berubah sifat sehingga tidak dapat melakukan fungsinya. Deret asam amino protein tersebut tetap utuh setelah berubah sifat, namun aktivitas biologisnya menjadi rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya.^{11,18,19} Adanya kombinasi senyawa fenol yang terdapat dalam daun sirih dengan *fluoride* dalam pasta gigi sangat efektif dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S. mutans*. Hal ini disebabkan adanya sinergi antara kedua bahan antikaries tersebut dalam menghambat pertumbuhan *S.mutans*.^{18,20}

Selain siwak dan daun sirih, bahan herbal lain yang sering ditemukan di pasaran yang dikombinasikan dengan pasta gigi yang mengandung *fluoride* adalah *xylitol*. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa pasta gigi yang mengandung *fluoride* dan *xylitol* memiliki pengaruh yang lebih rendah dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S. mutans* dibandingkan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan penambahan bahan herbal lain seperti siwak dan daun sirih. Namun masih memiliki pengaruh yang lebih tinggi dibandingkan pasta kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian Sabir yang menyimpulkan bahwa tindakan menyikat gigi dengan menggunakan pasta gigi yang mengandung *xylitol* lebih efektif dibandingkan pasta gigi standar dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S. mutans* pada saliva.² *Xylitol* memiliki sifat anti kariogenik sehingga tidak dapat difermentasi oleh *S.mutans* dan dapat menghambat produksi asam.²⁰⁻²⁵ Mekanisme *xylitol* dalam menghambat produksi

asam dan pertumbuhan bakteri dikenal dengan *futile xylitol cycle* yaitu suatu siklus yang dimulai dari *transport xylitol* melalui *transport fosfotransferase* yang spesifik untuk fruktosa. Selanjutnya *xylitol* akan mengalami fosforilasi dan menghasilkan 5-fosfat *xylitol* yang kemudian akan terakumulasi di dalam sel bakteri sehingga menyebabkan terjadinya defosforilasi dan keluarnya *xylitol* dari sel.²²⁻²⁴

Adanya kandungan *xylitol* dalam pasta gigi *fluoride* diduga lebih efektif menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S.mutans* karena keunggulan masing-masing bahan anti karies ini. Adanya interaksi *xylitol* sebagai pembawa kalsium dengan *fluoride* membentuk CaF_2 yang akan mempercepat terjadinya remineralisasi. Hasil penelitian Sano dkk. menunjukkan bahwa kombinasi *xylitol* dan *fluoride* dalam pasta gigi lebih efektif mencegah terjadinya karies daripada pasta gigi yang hanya mengandung *fluoride*.²⁰⁻²⁶

Hasil penelitian ini menunjukkan pasta gigi tanpa bahan herbal (kontrol) dapat menurunkan jumlah koloni *S.mutans*. Namun pasta gigi ini tidak mempunyai pengaruh yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan penambahan bahan herbal seperti siwak, daun sirih dan *xylitol* dalam menurunkan jumlah *S.mutans*. *Fluoride* yang terkandung dalam pasta gigi kontrol dapat meningkatkan terjadinya remineralisasi dan mengurangi kemampuan bakteri untuk memproduksi asam. Hal ini sesuai penelitian Hasim yang menyatakan bahwa *fluoride* dapat menghambat produksi asam dengan cara menginaktifkan enzim yang berperan dalam proses pembentukan energi bagi *S.mutans*. Substrat berupa karbohidrat untuk energi *S.mutans* mengalami metabolisme melalui proses glikolisis. Proses glikolisis ini tidak akan terjadi tanpa bantuan beberapa enzim, salah satunya enzim enolase. Enzim enolase mempunyai kofaktor berupa ion Mg^{2+} . Ion fluor yang terkandung dalam pasta gigi menyebabkan ion Mg^{2+} berikatan dengan ion fluor sehingga enzim enolase menjadi tidak aktif. Dampaknya aktivitas *S.mutans* untuk menghasilkan asam akan terhambat karena kekurangan energi.^{25,26}

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pasta gigi yang mengandung *fluoride* dengan penambahan bahan herbal siwak lebih tinggi pengaruhnya dalam menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *S.mutans* disusul dengan daun sirih dan *xylitol* serta pasta gigi yang hanya menggunakan *fluoride*. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan bahan herbal yaitu siwak, daun sirih, dan *xylitol* dalam pasta gigi yang mengandung *fluoride* dapat meningkatkan efek dari pasta gigi tersebut

dalam menurunkan pertumbuhan *S.mutans* dibandingkan dengan pasta gigi yang hanya mengandung *fluoride*.

Daftar Pustaka

1. Sabir A. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). Majalah Kedokteran Gigi (Dent J) 2005; 38(3): 135-41.
2. Sabir A. Efek pasta gigi xylitol terhadap jumlah koloni *Streptococcus mutans* dalam saliva. Dentika Dent J 2009; 14(2): 149-52.
3. Samarayanake L. Essential microbiology for dentistry. 3rd ed. Churchill Livingstone: Elsevier, 2006: 121-6.
4. Koo H, Schobel B, Scott-Anne K, Watson G, Bowen HB, Cury JA, et al. Apigenin and *tt*-farnesol with fluoride on *S. mutans* biofilm and dental caries. J Dent Res 2005; 84(11): 1016-20.
5. Soesilo D, Santoso RE, Diyatri I. Peranan sorbitol dalam mempertahankan kestabilan pH saliva pada proses pencegahan karies. Majalah Kedokteran Gigi (Dent J) 2005; 38(1): 25-8.
6. Fejerskov O, Kidd E. Dental caries the disease and its clinical management. Blackwell Munksgaard 2003; 72-8.
7. Koo H. Strategic to enhance the biological effect of fluoride on dental biofilms. Advances in J Dent Res 2008; 20: 17-21.
8. Milgrom P, Ly KA, Roberts MC, Rothen M, Mueller G, Yamaguchi DK. Mutan streptococci dose response to xylitol chewing gum. J Dent Res 2006; 85: 177-81.
9. Nalina T, Rahim ZHA. The crude aqueous extract of *Piper betle* L. and its antibacterial effect toward *Streptococcus mutans*. Am J Biotech and Biochem 2007; 3(1): 10-5.
10. Pratiwi R. Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal. Majalah Kedokteran Gigi (Dent J) 2005; 38(2): 64-7.
11. Simon L. The role of *Streptococcus mutans* and oral ecology in the formation of dental caries. J Young Invest 2007; 17(6): 1-9.
12. Subramaniam S, Siswomihardjo W, Sunarintyas S. The effect of different concentrations of neem (*Azadirachta indica*) leaves extract on the inhibition of *Streptococcus mutans* (*In vitro*). Majalah Kedokteran Gigi (Dent J) 2005; 38(4): 176-9.
13. Shivakumar KM, Vidya SK, Chandu GN. Dental caries vaccine. Indian J Dent Res 2009; 20(1): 99-106.
14. Almas K. The antimicrobial effects of seven different types of Asian chewing sticks. Odonto-Stomalogie Tropicale 2001; 17-20.
15. Ooshima T, Matsumura M, Hoshino T, Kawabata S, Sobue S, Fujiwara T. Contribution of three glucosyltransferases to sucrose-dependent adherent of *Strep-*

- tococcus mutans*. J Dent Res 2001; 80(7): 1672-7.
16. Sharma S, Ali KI, Ali I, Ali F, Kumar M, Kumar A, *et al*. Evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of hydroxychavicol for its potential use as an oral care agent. J Antimicrob Agent and Chemoth 2009; 53(1): 216-22.
 17. Smith DJ. Dental caries vaccines: prospects and concerns. J Crit Rev in Oral Biol and Med 2002; 13(4): 335-49.
 18. Prahasanti C. Pengaruh pasta gigi yang mengandung ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan plak gigi. Majalah Kedokteran Gigi (Dent J) 2000; 33(4): 127-8.
 19. Burt BA. The use of sorbitol-and xylitol-sweetened chewing gum in caries control. J Am Dent Ass 2006; 137: 190-6.
 20. Robert MC, Riedy C, Coldwell SE, Nagahama S, Judge K, Lam M, *et al*. How xylitol-containing product affect cariogenic bacteria. J Am Dent Ass 2002; 133(4): 435-41.
 21. Chunmuang S, Jitpukdeebodindra S, Chuenarrom C, Benjakul P. Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion *in-vitro*. J Oral Sci 2007; 49(4): 293-7.
 22. Sano H, Nakashima S, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel *in vitro*. J Oral Sci 2007; 49(1): 67-73.
 23. Ly KA, Milgrom P, Roberts MC, Yamaguchi DK, Rothen M, Mueller G. Linear response of mutans streptococci to increasing frequency of xylitol chewing gum use: a randomized controlled trial. BMC Oral Health J 2006; 6(6): 1-6.
 24. Silva TC, Faustino AF, Aparecida M, Buzalaf MA. The use xylitol as strategy for prevention of dental caries. Rev Odonto Cienc J 2009; 24(2): 205-12.
 25. Jabarifa SE, Tabibian SA, Poursina F. Effect of fluoride mouthrinse and toothpaste on number of streptococcal colony forming unit of dental plaque. J Res in Med Sci 2005; 10(6): 363-7.
 26. Mani SA. Evidence-based clinical recommendations for fluoride use: a review. Arch of Orofac Sci J 2009; 4(1): 1-6.