

Efektivitas Antimikroba Minyak Zaitun Sebagai Bahan Tambahan Pasta Gigi Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Rahmawati Nur Annisa*¹, Murni Mursyid¹

¹Universtas Muhammadiyah Palopo

Jl. Jend Sudirman No.Km. 03, Binturu, Wara Sel., Kota Palopo, Sulawesi Selatan 91922

*e-mail: rahmawati_nurannisa@umpalopo.ac.id

Abstrak

Menjaga kesehatan gigi dan mulut adalah hal yang sangat penting untuk diperhatikan karena pada daerah mulut terdapat berbagai macam bakteri yang dapat mengganggu kesehatan gigi hingga kesehatan tubuh. Karies gigi merupakan salah satu bentuk kerusakan gigi yang terjadinya karena adanya penumpukan plak pada gigi akibat terjadi penumpukan bakteri *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi. Pencegahan karies pada gigi pada umumnya dilakukan yaitu mengontrol pembentukan plak pada gigi dengan cara mekanik (menggosok gigi) dan ditambah dengan penggunaan pasta gigi sebagai bahan tambahan untuk mengatasi pertumbuhan *S. mutans*. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba pasta gigi yang diberi bahan tambahan minyak zaitun sebagai terhadap *S. mutans*. Pasta gigi yang dibuat diberikan bahan tambahan minyak zaitun dalam berbagai konsentrasi yaitu 10, 15 dan 20%, pasta gigi kontrol yaitu pasta gigi yang tidak diberi bahan tambahan minyak. Pengujian aktivitas antimikroba dari pasta gigi dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasta gigi dengan tambahan minyak zaitun pada konsentrasi 10, 15 dan 20% memiliki aktifitas antimikroba terhadap *S. mutans* dengan nilai zona masing-masing sebesar 24,55; 26,25; dan 28,25 mm. Zona hambatan terbesar yaitu 28,25 mm pada konsentrasi tambahan minyak 20%.

Kata kunci— Pasta gigi, aktivitas antimikroba, minyak zaitun, *S. mutans*

Abstract

Maintaining healthy teeth and mouth was very important because in the mouth area there are various kinds of bacteria that can interfered with the health of the teeth and body health. Dental caries is a form of tooth decay that occurs due to the buildup of plaque on the teeth due to the accumulation of *Streptococcus mutans* bacteria on the tooth surface. Prevention of caries in teeth is generally carried out, namely controlling the formation of plaque on teeth by mechanical means (brushing the teeth) and coupled with the use of toothpaste as an additive to overcome the growth of *S. mutans*. This study aimed to determine the antimicrobial activity of toothpaste with olive oil as an additional ingredient against *S. mutans*. Toothpaste made with additional olive oil in various concentrations, namely 10, 15 and 20%, the control toothpaste was the toothpaste that was not given additional oil. The antimicrobial activity of toothpaste was tested by using agar diffusion method using disc paper. The results showed that

toothpaste with the addition of olive oil at concentrations of 10, 15 and 20% had antimicrobial activity against *S. mutans* with zone values of 24.55 each; 26.25; and 28.25 mm. The biggest zone of resistance is 28.25 mm at an additional concentration of 20% oil.

Keywords—tooth paste, antimicroba activity, olive oil, *S. mutans*

1. PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang sangat penting penting untuk diperhatikan karena pada daerah mulut terdapat berbagai macam bakteri yang dapat mengganggu kesehatan gigi hingga kesehatan tubuh secara umum. Salah satu bentuk kerusakan gigi adalah karies gigi atau gigi berlubang. Karies ini terjadinya krena adanya penumpukan plak pada gigi akibat terabaikannya kebersihan rongga mulut. Plak adalah lapisan tipis yang melekat erat pada permukaan gigi serta mengandung kumpulan bakteri [1].

Streptococcus mutans dikenal sebagai agen utama penyebab karies gigi. Bakteri endogen *cario-genic* ini menempel dan menginvasi permukaan gigi dan menghasilkan lapisan glikokaliks yang lengket yang terdiri dari glukukan yang dihasilkan dari aktifitas enzim *glucosyltransferase* dari *S. mutans* yang terdapat dalam karbohidrat pada bahan makanan (terutama sukrosa). Akumulasi bakteri pada email gigi menyebabkan pembentukan plak pada gigi yang di dalamnya terjadi produksi asam yang berkelanjutan oleh plak bakteri yang menyebabkan demineralisasi email gigi dan akibatnya terjadi pembentukan karies pada gigi [2].

Sejak diketahui plak gigi merupakan faktor yang mendominasi penyebab hilangnya gigi oleh karena karies dan penyakit periodontal [3]. Salah satu cara pencegahan karies yang dilakukan adalah mengusahakan agar pembentukan plak pada permukaan gigi. Pembentukan plak pada gigi dapat dibatasi dengan cara pembersihan plak secara teratur. Pengendalian plak dapat dilakukan melalui pembersihan secara mekanis yaitu dengan menyikat gigi dan dibantu dengan penggunaan larutan kumur serta pasta gigi sebagai penambahan bahan aktif antibakteri yang berasal dari bahan alami maupun bahan sintetik. Bahan antibakteri yang tersedia dalam pasta gigi berfungsi untuk menekan pertumbuhan *S. mutans* yang dapat menimbulkan plak pada gigi [4].

Bahan antibakteri yang umum digunakan untuk kontrol plak dalam pasta gigi diantaranya adalah fenol, hexetidine, fluor dan chlorhexidine. Akan tetpi penggunaan bahan kimia secara berlebihan juga dapat mengganggu kesehatan, sehingga pada saat ini bahan alternatif dari minyak esensial dan ekstrak tumbuhan (herbal) merupakan hal yang menarik untuk dijadikan pilihan sebagai bahan antibakteri dalam pasta gigi [4]. Pasta gigi herbal yang telah banyak digunakan di Indonesia adalah pasta gigi daun sirih karena daun sirih mengandung eugenol dan derivat eugenol berupa kavikol, kavibetol, allylpyrokatekol, karvakol, eugenol metil eter, eugenol metil eter dan senyawa golongan terpenoid dimana diketahui Carvacol, eugenol dan kavibetol merupakan isomer eugenol yang dilaporkan memiliki aktivitas paling kuat terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif [5; 6]. Bahan herbal lain yang banyak digunakan tersedia di Indonesia yaitu minyak zaitun, diketahui bahwa minyak zaitun merupakan minyak nabati yang memiliki manfaat bagi kesehatan.

Minyak zaitun (*olive oil*) adalah minyak yang diperoleh dari perasan buah zaitun *Olea europaea*. Minyak ini banyak digunakan oleh masyarakat. Umumnya minyak zaitun dimanfaatkan untuk memasak, bahan kosmetik, serta bahan bakar. Minyak zaitun dipercaya memberikan manfaat biologi terutama melalui antioksidan yang terkandungnya. Meskipun komposisi minyak zaitun rumit, kelompok utama senyawa yang dianggap berkontribusi pada manfaat kesehatan adalah asam oleat, fenolat, dan squalene [7]. Minyak zaitun mengandung polifenol yang ada dalam buah zaitun, air limbah minyak zaitun, dan daun zaitun memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme spektrum luas [8]. Minyak zaitun juga mengandung squalene yang memiliki aktivitas antioksidan dan moisturizer yang dapat digunakan untuk pengobatan penyakit pada kulit seperti jerawat, psoriasis, dan dermatitis [9; 10]. Studi in vitro minyak zaitun telah menunjukkan aktivitas antimikroba hidroksitirosol, tirosol, dan oleuropein terhadap beberapa strain bakteri yang terlibat dalam infeksi usus dan pernapasan. Hydroxytyrosol dan oleuropein memiliki aksi antimikroba terhadap *American Type Culture Collection* (ATCC) dan strain bakteri klinis yang diturunkan dari pasien, dengan aktivitas yang sedikit lebih besar terhadap strain ATCC [11]. Minyak zaitun juga mengandung senyawa fenol yang mempunyai efek sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan koagulasi sitoplasma sehingga terjadi lisis sel [12].

Berdasarkan uraian diatas, dapat diketahui bahwa minyak zaitun memiliki sejumlah kandungan fitokimia yang berfungsi sebagai antimikroba sehingga dapat dijadikan sebagai bahan tambahan dalam pasta gigi sebagai salah satu cara dalam menjaga kesehatan gigi. Namun belum ada penelitian mengenai efektivitas antimikroba minyak zaitun yang digunakan sebagai bahan tambahan dalam pasta gigi. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian efek antibakteri minyak zaitun sbagai bahan tambahan pasta gigi terhadap bakteri *S. mutans*

2. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2019 - Januari 2020 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar

2.2 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian meliputi (1) Tahapan Persiapan Alat dan Bahan, (2) tahap pembuatan pasta gigi, (3) Uji Aktivitas Antimikroba Pasta Gigi dan (4) tahapan analisis data.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Pasta Gigi

Sorbitol ditimbang sebanyak 5 gram dan dicampur dengan gliserin sebanyak 5 ml di dalam lumpang. Kemudian gum arab sebanyak 1 gram yang sudah diencerkan dengan aquades panas sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam lumpang yang telah berisi campuran sorbitol dan gliserin sambil diaduk hingga merata. Baking soda ditimbang sebanyak 0,05 gram, dan CaO sebanyak 10 gram serta Hidroksi Apatit sebanyak 0,6875 gram dimasukkan ke dalam lumpang yang telah berisi campuran sorbitol gliserin dan gum arab lalu diaduk hingga merata.

Setelah campuran diatas telah berbentuk pasta, kemudian ditambahkan peppermint oil sebanyak 1 sampai 2 tetes dan di aduk sampai merata. Pasta yang telah jadi kemudian di timbang dan di bagi ke dalam 7 wadah yang berbeda dimana masing-masing wadah berisi 5 gram pasta. Kemudian siapkan 4 wadah, 1 wadah yang berisikan pasta merupakan kontrol dengan tidak dilakukan penambahan minyak zaitun. 3 wadah yang berisikan pasta, masing-masing wadah dimasukkan minyak zaitun dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% ke dalam pasta sambil terus diaduk hingga merata, halus.

2.3.2 Uji Aktivitas Antimikroba

Peremajaan Bakteri Uji. Bakteri *S. mutans* yang berasal dari biakan murninya diambil sebanyak 1 ose kemudian ditumbuhkan atau diinokulasikan dengan cara digores pada medium Nutrient Agar (NA) miring. Kultur bakteri pada masing-masing agar miring diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji. Bakteri *S. mutans* $OD_{600nm} = 1$ (10^8 CFU mL⁻¹) hasil peremajaan disuspensi kedalam NaCl fisiologis 0,9% steril.

Uji Aktivitas Antimikroba Pasta Gigi. Pasta gigi dengan variasi konsentrasi 10%, 15%, dan 20% serta pasta gigi kontrol diencerkan dengan cara diambil sebanyak 1 gram masing-masing pasta lalu diencerkan dengan 1 ml aquades.

Pengujian dilakukan secara in vitro dengan metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram. Suspensi bakteri uji dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 1 ml, lalu dituangkan medium Glukosa Nutrient Agar (GNA) pada suhu 45-50°C sebanyak 15-20 ml dan dibiarkan memadat. Kertas cakram (*blank disk*) yang telah direndam dalam larutan pasta gigi dengan beberapa konsentrasi minyak zaitun selama 15 menit, kemudian dilekatkan secara aseptis ke atas medium GNA dengan jarak antar blankdisk 2 cm, dan diinkubasi diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam. Setelah masa inkubasi tersebut, diukur diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

2.4 Analisis Data

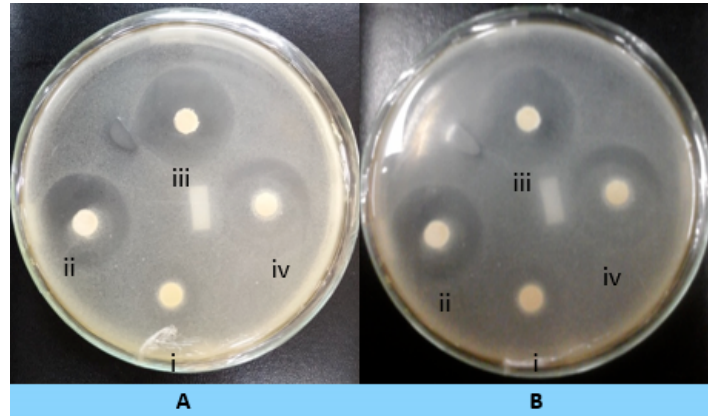
Data dianalisis secara deskriptif dengan melihat diameter zona hambatan yang dihasilkan dan kemudian diklasifikasikan kemampuan hambatan berdasarkan Tabel 1 [13].

Tabel 1. Klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri

<u>Diameter Zona Terang</u>	<u>Respon Hambatan Pertumbuhan</u>
>20 mm	Kuat
16 –20 mm	Sedang
10 –15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

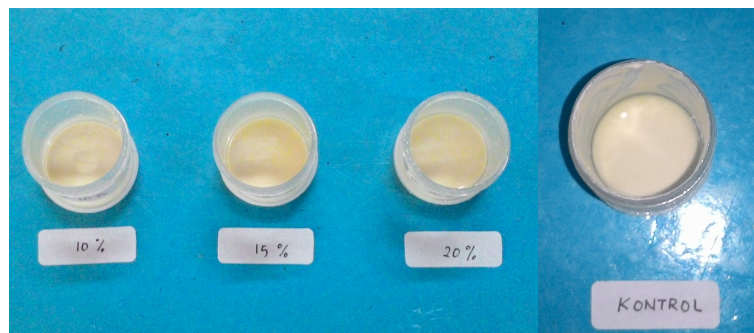
Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambatan terhadap Pasta gigi dengan penambahan minyak zaitun menunjukkan adanya aktivitas antimikroba pasta gigi terhadap bakteri *S. mutans* dengan menghasilkan zona hambatan/ zona bening dari ketiga variasi konsentrasi yang dibuat. Zona Hambatan yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan uji daya hambat dari Pasta Gigi dengan tambahan minyak zaitun berbagai konsentrasi terhadap bakteri *S. mutans* setelah inkubasi 1×24 Jam (A) dan 2 × 24 Jama (B) pada suhu 37°C

Keterangan :

- | | |
|-----------------------------|------------------------------|
| i : Kontrol | iii : Konsentrasi 15% |
| ii : Konsentrasi 10% | iv : Konsentrasi 20% |



Gambar 2. Pasta Gigi dengan tambahan minyak zaitun pada konsentrasi 10, 15 dan 20% serta Pasta Gigi Kontrol, pasta gigi tanpa penambahan minyak zaitun

Hasil pengamatan pada Gambar 1 terlihat bahwa pasta gigi pada konsentrasi 20% mempunyai zona hambat yang paling besar terhadap bakteri *S. mutans*, lalu diikuti oleh konsentrasi 15 dan 10%. Sedangkan pasta gigi kontrol memiliki zona hambatan yang paling kecil dari ketiga konsentrasi minyak yang diberikan pada pasta gigi. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak zaitun yang diberikan semakin tinggi pula zona hambat yang dibentuk. Zona hambatan yang terbentuk kemudian diukur dimatarnya untuk mengetahui seberapa besar hambatan yang dihasilkan. Hasil pengukuran diameter hambatan beberapa variasi konsentrasi dari Pasta gigi yang mengandung minyak Zaitun setelah 24 jam inkubasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambatan Pasta Gigi

Seri Konsentrasi	Luas Zona Hambat (mm)			Rata-rata Zona Hambatan (mm) ± SD
	Pengulangan			
	1	2	3	
Kontrol	12,15	13,27	12,25	12,5567 ± ,61978
10%	24,55	24,35	24,75	24,5500 ± ,20000
15%	26,35	26,55	25,85	26,2500 ± ,36056
20%	28,35	28,15	28,25	28,2500 ± ,10000

Dari Tabel 2 setelah masa inkubasi selama 1×24 jam dapat dilihat bahwa zona hambatan yang terbentuk pada pasta gigi II dengan konsentrasi 20% memiliki diameter zona hambatan yang paling besar yaitu 28,25 mm selanjutnya pada konsentrasi 15 dan 10% memiliki diameter zona hambatan berturut – turut yaitu 26,25 dan 24,55 mm. Sedangkan pasta gigi kontrol memiliki diameter zona hambatan sebesar 12,45 mm. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian minyak zaitun pada pasta gigi memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *S. mutans*. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Harshal P. B et al (2015) [14] dimana melakukan penelitian mengenai efektivitas antimikroba ekstrak zaitun etanol 8% sebanyak 50 μ l terhadap *S. mutans* menunjukkan adanya aktivitas antimikroba dengan menghasilkan zona hambatan sebesar 33 mm .

Tabel 3 Klasifikasi Respon Hambatan Tiap Konsentrasi Penambahan Minyak Zaitun terhadap Bakteri *S. mutans*

Seri Konsentrasi	Rata-rata Zona Hambatan (mm) ± SD	Respon Hambatan
Kontrol	12,5567 ± ,61978	Lemah
10%	24,5500 ± ,20000	Kuat
15%	26,2500 ± ,36056	Kuat
20%	28,2500 ± ,10000	Kuat

Tabel 3 menunjukkan pemberian 3 konsentrasi minyak zaitun pada pasta gigi memiliki respon hambatan yang kuat dibandingkan dengan pasta gigi kontrol yang tidak mengandung minyak zaitun memiliki respon hambatan yang lemah terhadap bakteri *S. mutans*. Pasta gigi dengan tambahn minyak zaitun berbagai konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dengan respon yang kuat hal ini dikarenakan dari bahan tambahan minyak zaitun yang digunakan mengandung flavonoid, oleuropein, dan senyawa fenolik utama dalam buah zaitun, seperti asam elenolic dan polifenol hidroksitirozol [15]. Flavonoid dapat menghambat bakteri yaitu dengan merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan tersebut memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, sehingga menyebabkan kematian bakteri [16].

Semua bakteri sensitif terhadap polifenol minyak zaitun, efek perlawanan yang lebih tinggi secara umum terjadi pada Bakteri Gram-positif dari pada bakteri Gram-negatif. Dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Medina et al (2006) [17], telah mengamati efek bakterisida dengan semua jenis minyak zaitun terhadap bakteri kariogenik *S. mutans* dan hal tersebut juga telah dilaporkan oleh Pretty et al (2003) menyatakan bahwa formulasi pasta gigi minyak zaitun dapat mengurangi adhesi dan pertumbuhan bakteri. Aktivitas bakterisida yang kuat yang diberikan oleh polifenol minyak zaitun terjadi pada patogen makanan. Aktivitas ini ditemukan terhadap strain *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica subs.enterica*, *Yersinia* sp. dan *Shigella sonnei*, dan temuan ini membuka kemungkinan

menggunakan minyak zaitun sebagai pengawet makanan untuk mencegah pertumbuhan patogen pada makanan atau menunda timbulnya pembusukan makanan [17].

Pasta gigi kontrol yaitu pasta gigi tanpa penambahan minyak juga mampu menghasilkan zona hambatan di sekitar kertas cakram walaupun besar zona hambatan yang dihasilkan tidak sebesar dengan zona hambatan pada pasta gigi setelah ditambahkan dengan minyak zaitun. Hal ini dikarenakan pada bahan dasar pasta gigi yang digunakan terdapat baking soda yang juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*, sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Ghassemi dan Vorwerk pada tahun 2008 di Amerika yang membandingkan kemampuan antibakteri dari pasta gigi baking soda dan *triclosan*, hasil penelitian menunjukkan pasta gigi baking soda lebih efektif dalam menghambat bakteri plak [18]. Hal yang sama juga telah dilakukan oleh Silhacek dan Taake (2005) yang menemukan penurunan yang bermakna dari pertumbuhan bakteri *S. mutans* setelah diberikan baking soda [19].

4. KESIMPULAN

Penambahan minyak zaitun pada pasta gigi memiliki aktivitas antimikroba dengan menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Semakin tinggi konsentrasi minyak zaitun yang digunakan maka semakin besar diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk dengan zona hambatan terbesar yaitu 28,25 mm pada konsentrasi tambahan minyak 20%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Beighton, D. B., 2007. Dental caries and pulpitis. In: Ireland R, eds. Dental hygiene and thera. Blackwell Munksgaard: Oxford
- [2] Goncalves GMS, Bottaro M, Nilson AC., 2011. Effects of Thymus vulgaris essential oil on the growth of *Streptococcus mutans*. *J Basic Appl Pharm Sci*. 32:375-380.
- [3] Da Silva DD., Goncalo CS., De Sousa MLR., Wada RS, 2004. Aggregation of plaque disclosing agent in a dentifrice. *J Appl Oral Sci*. 12(2): 154–158.
- [4] Pistorius A., Willershausen B., Steinmeier EM., Kreisler M., 2003. Efficacy of subgingival irrigation using herbal extract on gingival inflammation. *J Periodontol*. 74: 616–622.
- [5] Hariana AH., 2013. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Swadaya : Jakarta.
- [6] Dorman HD., Deans SG., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*. 88(2): 308-316.
- [7] Owen RW., Giacosa A., Hull, WE., Haubner R., Würtele, G., Spiegelhalder B., Bartsch H., 2000. Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *The lancet oncology*. 1(2): 107-112.
- [8] Medin E., Castro, A., Romero C., Ramírez E., Brenes M., 2013. Effect of antimicrobial compounds from olive products on microorganisms related to health, food and agriculture. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*. 2: 1087-1094.

- [9] Cui Z., Xin M., Yin H., Zhang J., Han F. 2015. Topical use of olive oil preparation to prevent radiodermatitis: results of a prospective study in nasopharyngeal carcinoma patients. *Int J Clin Exp Med.* 8(7): 11000–11006.
- [10] Waterman E., Lockwood B., 2007. Active Components and Clinical Applications of Olive Oil. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic.* 12(4): 331-342.
- [11] Tuck KL., Hayball PJ., 2002. Major phenolic compounds 15.in olive oil: metabolism and health effects. *J Nutr Biochem.* 13:636-644.
- [12] Sudarmi K., Darmayasa I., Muksin I., 2017. Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *SIMBIOSIS.* 5(2): 47-51. doi:10.24843/JSIMBIOSIS.2017.v05.i02.p03
- [13] Alfath CR., Yulina V, Sunnati, 2013. Antibacterial Effect of Granati fructus Cortex Extract on *Streptococcus mutans* In Vitro. *Journal of Dentistry Indonesia.* 20(1): 5–8.
- [14] Bafna HP., Ajith Krishnan CG., Kalantharakath T., Kalyan P., Arhi RP., 2015. An *In-vitro* Evaluation of the Effect of Anti-candidal Herb (Olive) on *Streptococcus mutans*. *Indian J Oral Health Res.* 1(1):20-23.
- [15] Fleming HP., Walter W., Etchells JL., 1973. Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives. *Appl. Microbiol.* 26: 777-782
- [16] Volk WA., Wheeler MF., 1988. Mikrobiologi Dasar. Jilid II. Terjemahan Soenartomo Adisoemarto. Erlangga: Jakarta.
- [17] Medina, E., de Castro, A., Romero, C., and Brenes, M., 2006. Comparison Of The Concentration Of Phenolic Compounds In Olive Oils And Other Plant Oils: Correlation With Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.* 54: 4954-4961 .
- [18] Ghassemi A., Vorwerk LM., Hooper WJ., Putt MS., Milleman KR., 2008. A Four-Week Clinical Study to Evaluate and Compare the Effectiveness of a Baking Soda Dentifrice and an Antimicrobial Dentifrice in Reducing Plaque. *J Clin Dent.* 19(4) : 120-126.
- [19] Silhacek KJ., Taake KR., 2005. Sodium bicarbonate and hydrogen peroxide: the effect on the growth of *Streptococcus mutans*. *J Dent Hyg.* 79(4):7.