

Efek Antibakteri Formulasi Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) dan Peppermint (*Mentha piperita* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*

The antibacterial Effect of Green Tea (*Camellia sinensis* L.) And Peppermint (*Mentha piperita* L.) Extract Toothpaste Against *Streptococcus mutans*

Regina Pradipta¹, Vinna Kurniawati Sugiaman², and Wahyu Widowati³

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

²Bagian Oral Biology, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Indonesia

³Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Indonesia

Correspondence email to: vinnakurniawati@yahoo.co.id

Received: 9 April 2024; Revised: 10 Jan 2025; Accepted: 20 Feb 2025; Published: 26 Feb 2025

ABSTRAK

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang bersifat asidogenik dan kariogenik yang berperan sebagai agen etiologi dalam pembentukan karies. Pemilihan pasta gigi yang mengandung bahan herbal merupakan salah satu upaya dalam pencegahan karies. Kombinasi ekstrak teh hijau dan peppermint dapat digunakan sebagai formulasi sediaan pasta gigi karena memiliki sifat antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek antibakteri sediaan pasta gigi ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan peppermint (*Mentha piperita* L.) terhadap *S. mutans*. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram, terdapat empat kelompok perlakuan yang diuji yaitu pasta gigi ekstrak teh hijau dan peppermint dengan konsentrasi 1000 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62,5 mg/ml, dan 31,25 mg/ml, pasta gigi base, pasta gigi herbal sebagai kontrol positif, dan NaCl 0,9% sebagai kontrol negatif. Hasil pengukuran diameter zona hambat terkecil didapatkan pada konsentrasi 125mg/ml dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 6,31 mm sedangkan zona hambat terbesar berada pada konsentrasi 1000 mg/ml dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 11,43 mm. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pasta gigi ekstrak teh hijau dan peppermint memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

Kata kunci: *Streptococcus mutans*, Antibakteri, Pasta gigi, Teh hijau, Peppermint

ABSTRACT

Streptococcus mutans is an acidogenic and cariogenic bacteria which acts as an etiological agent in caries formation. Selection of toothpaste containing herbal ingredients is one of the efforts to prevent caries. The combination of green tea extract and peppermint can be used as a toothpaste formulation because it has antibacterial properties. Purpose of this study was to determine the antibacterial effect of green tea (*Camellia sinensis* L.) and peppermint (*Mentha piperita* L.) extract toothpaste against *S. mutans*. This study used the disc diffusion method, there were four treatment groups tested, namely green tea and peppermint extract toothpaste with concentrations of 1000 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml, and 31.25 mg/ml, base toothpaste, herbal toothpaste as positive control, and 0.9% NaCl as negative control. The results of the smallest inhibition zone diameter was measured at a concentration of 125 mg/ml with an average inhibition zone diameter of 6.31 mm while the largest inhibition zone was at a concentration of 1000 mg/ml with an average inhibition zone diameter of 11.43 mm. Conclusion of this study was the Green tea and peppermint extract toothpaste has an antibacterial effect against *Streptococcus mutans*.

Keywords: *Streptococcus mutans*, Antibacteria, Toothpaste, Green tea, Peppermint

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan infeksi kronis yang penyebabnya multifaktoral.¹ Karies gigi menjadi penyebab utama dari nyeri di sekitar rongga mulut dan kehilangan gigi.² Berdasarkan hasil data riset kesehatan dasar (Riskesdas) tahun 2018 menyatakan bahwa sekitar 45,3% penduduk Indonesia memiliki karies gigi.³ Meskipun jarang menjadi ancaman yang mengancam jiwa, karies gigi adalah salah satu penyakit serius yang harus ditangani terutama dalam tindakan pencegahannya.^{4,5} Karies gigi ditandai dengan adanya demineralisasi pada struktur gigi.^{6,7} Sisa makanan yang bercampur dengan saliva akan difermentasikan oleh bakteri di dalam *biofilm* rongga mulut dan menghasilkan asam yang akan membentuk plak pada permukaan gigi.^{1,8} Kumpulan bakteri pada plak dapat menyebabkan terjadinya karies gigi. Bakteri pionir dalam pembentukan karies adalah *Streptococcus mutans*.⁸

Akumulasi plak pada gigi merupakan tahap awal pembentukan karies.⁸ Langkah awal yang dapat dilakukan untuk mencegah karies adalah dengan meningkatkan *oral hygiene* yaitu dengan menyikat gigi rutin dua kali sehari.^{9,10} Menyikat gigi merupakan cara mekanis yang dapat membersihkan plak sehingga resiko terjadinya karies dapat diminimalisir.^{11,12} Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai bahan formulasi pasta gigi adalah tanaman herbal seperti teh hijau (*Camellia sinensis* L) dan *peppermint* (*Mentha piperita* L).⁶

Teh hijau memiliki aroma khas dengan beragam khasiat serta mudah ditemukan di Indonesia.¹³ Ekstrak teh hijau dengan konsentrasi tertentu dapat menekan pertumbuhan *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) karena mengandung katekin senyawa dominan dari polifenol.⁶ Ekstrak *peppermint* digunakan sebagai bahan formulasi pasta gigi karena mengandung *menthol* yang dapat memberikan rasa kesegaran pada rongga mulut. *Peppermint* memiliki kandungan minyak atsiri yang berguna sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri salah satunya adalah bakteri *S mutans* bakteri penyebab karies gigi.^{14,15} Penelitian ini untuk mengetahui efek antibakteri formulasi sediaan pasta gigi ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan *peppermint* (*Mentha piperita* L.) pada *S mutans*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan *post-test only control group design in vitro*. Penelitian ini dibagi dalam 4 kelompok yaitu kelompok I (pasta gigi ekstrak teh hijau dan peppermint dengan konsentrasi 1000 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml, dan 31.25 mg/ml), kelompok II (pasta gigi *base* sebagai kontrol placebo untuk memisahkan efek sebenarnya dari perlakuan dibandingkan dengan efek bias), kelompok III (kontrol positif yaitu pasta gigi herbal sebagai tolok ukur untuk mengetahui hasil yang diharapkan), kelompok IV (kontrol negatif yaitu NaCl 0,9% untuk mengidentifikasi faktor asing yang mempengaruhi hasil penelitian). Jumlah sampel sembilan dengan tiga kali pengulangan pada tiap perlakuan.

Pasta gigi ekstrak teh hijau dan *peppermint* didapatkan dari PT.SkinSol, Bandung, Jawa Barat. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Aretha Medika Utama, Bandung, Jawa Barat. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mikropipet, tips, *analytical balance*, *effendorf tube*, inkubator, *biosafety cabinet*, vortex, *Whatman filter paper* no.3, *cotton swab* steril, *microwave*, *autoclave*, *falcon tube*, cawan petri *disposable*, jangka sorong, dan *serological pipet*. Bahan yang digunakan adalah medium *Mueller Hinton Agar*, medium *Mueller Hinton Broth*, pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint*, pasta gigi *antibacterial* berbahan dasar herbal, sediaan bakteri *S.mutans* ATCC 25175, NaCl 0,9%, ddH₂O, dan aquadest. Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji *Oneway ANOVA*.

Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau (ETH) dan *Peppermint* dibuat sendiri dengan melarutkan 2000 mg pasta gigi ETH dalam 1 mL NaCl 0.9% sehingga larutan stok memiliki konsentrasi sebesar 2000 mg/ml ekstrak dalam NaCl 0.9%.

Pembuatan Seri Konsentrasi

Pengenceran stok pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau (ETH) dan *Peppermint* (P) menggunakan NaCl 0.9% untuk membuat seri konsentrasi. Seri konsentrasi ekstrak adalah: Pasta Gigi ETH_Pp 2000 mg/ml: 1000 µL

Pasta Gigi ETH_Pp 1000 mg/ml: 500 μ L
larutan stok + 500 μ L NaCl 0.9% (A)
Pasta Gigi ETH_Pp 500 mg/ml : 500 μ L
larutan A + 500 μ L NaCl 0.9% (B)
Pasta Gigi ETH_Pp 250 mg/ml : 500 μ L
larutan B + 500 μ L NaCl 0.9% (C)
Pasta Gigi ETH_Pp 125 mg/ml : 500 μ L
larutan C + 500 μ L NaCl 0.9% (D)
Pasta Gigi ETH_Pp 62.5 mg/ml : 500 μ L
larutan D + 500 μ L NaCl 0.9% (E)
Pasta Gigi ETH_Pp 31.25 mg/ml : 500 μ L
larutan E + 500 μ L NaCl 0.9%

Pembuatan Media Tumbuh

Medium MHA sebanyak 19g dilarutkan dalam 500 mL ddH₂O dan medium MHB sebanyak 10.5 g dilarutkan dalam 500 mL ddH₂O, selanjutnya medium dipanaskan di *microwave* hingga mendidih. Sterilisasi medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C (20 menit). Lalu medium MHA dituangkan pada cawan petri untuk membuat lempeng agar.

Pembuatan Inokulum Bakteri

Senyawa antimikroba yang diuji adalah pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint* dengan konsentrasi sebesar 1000 mg/ml; 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62,5 mg/ml; 31,25 mg/ml; dan pasta gigi base 1000 mg/ml yang diencerkan dengan NaCl 0.9%, pasta gigi herbal sebagai kontrol positif, dan NaCl 0,9% sebagai kontrol negatif. Inokulum bakteri dibuat dengan menggunakan metode *direct colony suspension*. Kultur *S.mutans* pada medium Mueller Hinton Agar (MHA) selama 18-24 jam, diinokulasikan ke dalam medium Mueller Hinton Broth (MHB) untuk memperoleh inokulum. Kekeuhan dari larutan tersebut disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 untuk mendapatkan inokulum jumlah bakteri $1-2 \times 10^8$ CFU/mL.

Disk Diffusion Test

Proses inokulasi pada lempeng agar uji dilakukan dengan menggunakan metode *swab*. *Cotton swab* steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri yang kekeuhannya telah disesuaikan sebelumnya dengan larutan standar McFarland 0.5. *Cotton swab* tersebut ditekan ke dinding tabung dan secara merata diusapkan ke permukaan MHA. Diamkan selama 3-5 menit pada suhu ruang hingga suspensi tersebut terserap kedalam agar. Setelah itu, cakram kertas berukuran 6 mm direndam dalam 1 ml setiap konsentrasi pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint*, pasta gigi base, pasta gigi herbal, dan NaCl 0,9% selama kurang lebih 5 menit hingga larutan meresap kedalam cakram.

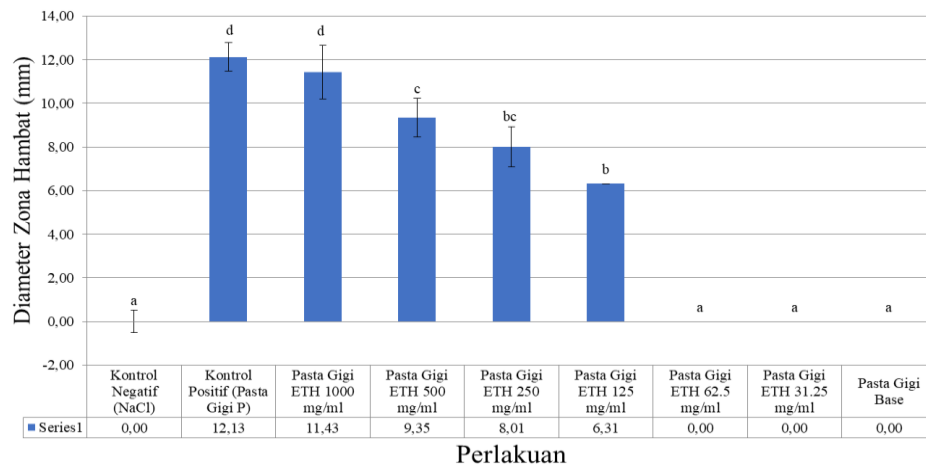
Kertas cakram diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi. Pada penelitian ini dilakukan uji sebanyak 3 kali pengulangan. Lempeng agar tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong merk digital Deli (DL91150). Diameter zona hambat dikategorikan lemah jika berukuran ≤ 5 mm, kategori sedang jika berukuran 5- 10 mm, kategori kuat jika berukuran 10-20 mm, dan kategori sangat kuat jika berukuran ≥ 20 mm.¹⁶

HASIL

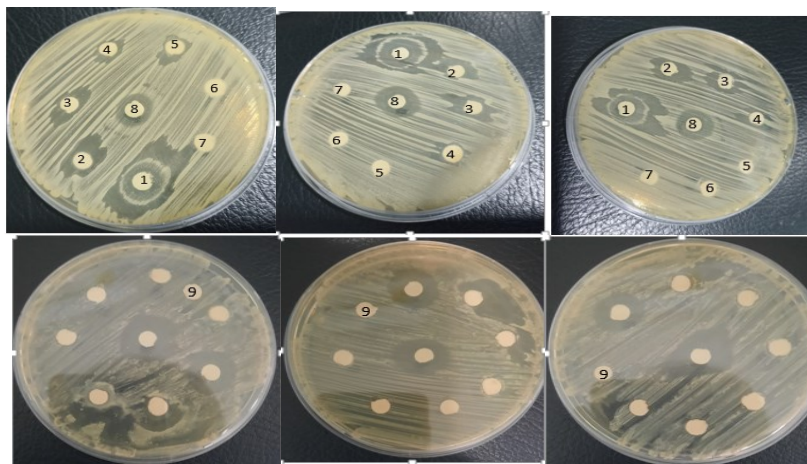
Uji efek antibakteri dari pasta gigi ekstrak teh hijau dan *peppermint* terhadap *S. Mutans* dengan tiga kali pengulangan disajikan pada tabel 1 dan gambar 1. Zona hambat yang efektif sebagai antibakteri mulai dari konsentrasi 125 mg/ml, diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 1000 mg/ml (mendekati kontrol positif).

Tabel 1. Diameter zona hambat *S.mutans* pada pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			\bar{x}	Penghambatan (%)
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
Kontrol Negatif (NaCl)	0	0	0	0.00	0,0
Kontrol Positif (Pasta Gigi P.S)	12.32	12.51	11.55	12.13	100,00
Pasta Gigi ETH 1000 mg/ml	11.01	12.20	11.09	11.43	94,22
Pasta Gigi ETH 500 mg/ml	9.50	10.50	8.05	9.35	77,08
Pasta Gigi ETH 250 mg/ml	9.04	7.50	7.50	8.01	65,9
Pasta Gigi ETH 125 mg/ml	7.12	6.51	5.31	6.31	12,13
Pasta Gigi ETH 62.5 mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0,00
Pasta Gigi ETH 31.25 mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0,00
Pasta Gigi Base	0.00	0.00	0.00	0.00	0,00



Gambar 1. Perbandingan Diameter Zona Hambat Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* terhadap *S. mutans*



Gambar 2. Hasil Pengamatan Zona Hambat Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* terhadap *S. mutans*

Keterangan Label Kertas Cakram (3 kali pengulangan):

1. Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* 1000 mg/ml
2. Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* 500 mg/ml
3. Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* 250 mg/ml
4. Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* 125 mg/ml
5. Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* 62.5 mg/ml
6. Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint* 31.25 mg/ml
7. Pasta Gigi Base (Kontrol Plasebo)
8. Pasta Gigi Herbal (Kontrol Positif)
9. NaCl 0,9% (Kontrol Negatif)

Berdasarkan hasil uji normalitas diketahui kelompok perlakuan memiliki p -value $> 0,05$ dan dinyatakan berdistribusi normal. Dilanjutkan analisis menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan efek antibakteri dari pasta gigi dengan ekstrak teh hijau dan *peppermint* terhadap *S. mutans*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa p -

value $< 0,05$ yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi daya hambat dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Berdasarkan klasifikasi tersebut, maka hasil pengukuran diameter zona hambat pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint* termasuk ke dalam kategori sebagai berikut:

Tabel 2. Klasifikasi Zona Hambat Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan *Peppermint*

Pasta Gigi Kombinasi	\bar{x} Diameter (mm)	Klasifikasi Zona Hambat
1000 mg/ml	11.43	Kuat
500 mg/ml	9.35	Sedang
250 mg/ml	8.01	Sedang
125 mg/ml	6.31	Sedang
62.5 mg/ml	0.00	Lemah
31.25 mg/ml	0.00	Lemah

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, pasta gigi herbal baru menunjukkan efek antibakterinya pada konsentrasi 125 mg/mL yang mempunyai potensi hambat sebesar 12,13%. Semakin tinggi konsentrasi dari pasta gigi ekstrak teh hijau dan *peppermint* maka semakin besar juga diameter zona hambat yang terbentuk yang berarti efek antibakteri yang dimiliki juga semakin besar. Klasifikasi dari Davis and Stout, Diameter zona hambat yang menunjukkan daya antibakteri dikategorikan lemah jika berukuran 5 mm atau kurang, zona hambat dikategorikan sedang jika berukuran 5-10 mm, zona hambat dikategorikan kuat jika berukuran 10-20 mm, dan zona hambat dikategorikan sangat kuat jika berukuran 20 mm atau lebih. Berdasarkan hasil penelitian, diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dari pasta gigi kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint* dikarenakan jumlah senyawa bioaktif yang memiliki efek antibakteri meningkat. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa peningkatan ukuran diameter zona hambat *S.mutans* tidak hanya dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi ekstrak teh hijau dan *peppermint* tetapi juga dipengaruhi oleh kombinasi lebih dari satu kombinasi bahan ekstrak tanaman. (Setiawati et al., 2022). Kombinasi ekstrak teh hijau dan *peppermint* memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S.mutans* yaitu saponin, tanin, fenol, flavonoid, alkaloid dan terpenoid.¹⁷ Salah satu senyawa fenolik yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah saponin. Saponin menyebabkan terganggunya permeabilitas

membrane sel karena rusaknya fungsi dari membran sel bakteri. Hal ini juga akan mengakibatkan kematian sel bakteri karena terjadinya kebocoran sel yang mengakibatkan sel bakteri menjadi rusak dan lisis.¹⁸ Senyawa fenol yang larut dalam air adalah tanin dengan berat molekul 500-3000.¹⁹ Tanin memiliki khasiat antioksidan dan memberikan cita rasa yang pahit dalam teh.¹⁹ Mekanisme antibakteri tanin berhubungan dengan target penyerangan yaitu dengan cara dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, sel bakteri akan ditembus masuk oleh senyawa tanin dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri. Kerusakan polipeptida terjadi pada dinding sel bakteri yang mengganggu sintesa petidoglikan, hal ini akan menyebabkan tidak sempurnanya pembentukan dinding sel.^{17,19} Fenol berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri karena kemampuannya dalam mengikat membran lipid.²⁰ Fenol merupakan senyawa bioaktif yang bersifat polar. Mekanisme antibakteri fenol yaitu hiperpolarisasi membran sel bakteri dan mengganggu pembelahan DNA. Kandungan fenol dapat mengganggu dinding sel dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri.²¹

Flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri *Streptococcus mutans*. Sifat dari flavonoid adalah lipofilik dan merusak sel membran. Mekanisme antibakteri flavonoid adalah dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri dari lipid dan asam amino sehingga struktur protein menjadi rusak, membran sitoplasma dan pengendalian protein dari bakteri *Streptococcus mutans* menjadi terganggu dan mengakibatkan sel lisis.^{21,22}

Alkaloid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki peran sebagai antibakteri sama seperti senyawa bioaktif fenol, flavonoid dan tanin. Mekanisme antibakteri oleh alkaloid adalah dengan menghambat sintesis dinding sel sehingga menyebabkan lisis yang membuat pertumbuhan bakteri menjadi terhambat.²²

Penelitian ini membuktikan bahwa formulasi sediaan pasta gigi ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dan peppermint (*Mentha piperita* L.) memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dengan diameter zona hambat terbesar termasuk kategori kuat dengan konsentrasi 1000mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak teh hijau dan peppermint dapat berpotensi sebagai formulasi sediaan pasta gigi. Kemampuan antibakteri yang dimiliki oleh alkaloid adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun pada sel bakteri yaitu peptidoglikan.²¹

Senyawa lainnya yang memiliki peranan sebagai antibakteri adalah terpenoid. Senyawa ini bereaksi dengan porin sebagai protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri. Terpenoid akan membentuk ikatan polimer kuat yang mengakibatkan terjadinya kerusakan porin. Kondisi ini menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri berkurang dan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi. Selanjutnya bakteri akan mati karena pertumbuhannya terhambat.²³ Sejalan dengan hasil penelitian Hulwah¹⁷ bahwa ukuran zona hambat dipengaruhi besarnya konsentrasi ekstrak teh hijau dan peppermint serta ada tidaknya kombinasi ekstrak tanaman.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa formulasi pasta gigi ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L) dan peppermint (*Mentha piperita* L) memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat. Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 125 mg/ml dengan diameter rata-rata 6,31 mm, dan pada konsentrasi 1000 mg/ml sebesar 11,43 mm, hampir setara dengan kontrol positif pasta gigi herbal (12,13 mm). Semakin tinggi konsentrasi pasta gigi, maka semakin besar daya hambat yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Garg N, Garg A. *Textbook of operative dentistry*. 3rd ed. India, New Delhi: Jaypee; 2015: 40–46.
2. Yadav K, Prakash S. Dental caries: A review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2016;6(53):1–7.
3. Kementerian Kesehatan. *Laporan nasional riskesdas tahun 2018*. Jakarta: Kemenkes RI; 2018: 93–96.
4. Pesaressi E, Villena RS, Frencken JE. Dental caries and oral health-related quality of life of three year old living in Lima, Peru. *Int J Paediatr Dent*. 2020;30(1):57–65.
5. Suratri MAL, Jovina TA, Notohartoyo IT. Hubungan kejadian karies gigi dengan konsumsi air minum pada masyarakat di Indonesia. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 2018;28(3):211–18.
6. Xin X, Yuan Z, Wenyan S, Yaling L, Xuedong Z. *Dental caries principles and management*. China, Chengdu: Springer ; 2016. 30–32.
7. Frencken JE. *Evidence based caries prevention*. Turkey, Izmir: Springer; 2016.
8. Vasudevan D, Sreekumari S, Kannan V. *Textbook of biochemistry for dental student*. 3rd ed. India, Delhi: Jaypee; 2017.
9. Ashkenazi M, Bidoosi M, Levin L. Effect of preventive oral hygiene measures on the development of new carious lesions. *Oral Health Prev Dent*. 2014;12(1):61–68.
10. Kumar S, Tadakamadla J, Johnson NW. Effect of toothbrushing frequency on incidence and increment of dental caries: A systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2016;95(11):1230–36.
11. Senjaya AA. Menyikat gigi tindakan utama untuk kesehatan gigi. *Jurnal Skala Husada*. 2013;10(2):194–99.
12. Faller R, Zupan AB. *Understanding dental caries from pathogenesis to prevention and therapy*. 3rd ed. France, Paris: Springer; 2016. 187–98.
13. Suprihatini R, Batubara I, Achmadi SS, Mariya S, Mulyatni AS, Sokoastri V, et al. *Teh camellia sinensis Indonesia: Lebih menyehatkan*. Indonesia, Bogor: IPB University. 2021. Hlm 8–9.

14. Setiawati Y, Ramadhani M, Bobsaid J, Oktavia D, Hulwah Z. Mic and mbc levels of combination camellia sinensis and mentha piperita extract mouthwash against streptococcus mutans. *Nusantara Medical Science Journal*. 2022;7(1):39–47.
15. Chassagne F, Samarakoon T, Porras G, Lyles JT, Dettweiler M, Marquez L, et al. A systematic review of plants with antibacterial activities: A taxonomic and phylogenetic perspective. *Front Pharmacol*. 2021;11:1–3.
16. Ariyani H, Nazemi M, Kurniati M. Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (cytrus hystrix dc) terhadap beberapa bakteri. *Journal of Current Pharmaccutical Sciences*. 2018;2(1): 2090–95.
17. Hulwah DOZ, Bobsaid J, Ramadhani M, Setiawati Y. Efektivitas Mouthwash Berbahan Dasar Ekstrak Camellia sinensis dan Mentha piperita sebagai Antibakteri terhadap Streptococcus mutans. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 2022;28(1):30–39.
18. Khan MI, Ahhmed A, Shin JH, Baek JS, Kim MY, Kim JD. Green tea seed isolated saponins exerts antibacterial effects against various strains of gram positive and gram negative bacteria, a comprehensive study in vitro and in vivo. *Evidence-based. Complementary Alternative Medicine*. 2018. p.1–2.
19. Wulandari R, Utomo PP. Skrinning fitokimia dan aktivitas antioksidan teh herbal daun buas-buas (Premna cordifolia roxb.). *Jurnal Dinamika Penelitian Industry*. 2019;30(2):117–22.
20. Hidayah N, Mustikaningtyas D, Harnina Bintari. Aktivitas Antibakteri Infusa Simplisia Sargassum muticum terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus. *Jurnal Universitas Semarang*. 2017;6(2):50-53.
21. Marfuah I, Dewi N, Rianingsih L. Kajian potensi ekstrak anggur laut (Caulerpa racemosa) sebagai antibakteri terhadap bakteri escherichia coli dan staphylococcus aureus. *J.Peng & Biotek UNDIP*. 2018;7(1):1-8.
22. Mulyantini IP, Mulkiya K, Syafnir L. Penelusuran Pustaka Potensi Aktivitas Antibakteri dari Sepuluh Tanaman dengan Kesamaan Kandungan Metabolit Sekunder terhadap Bakteri Streptococcus mutans. *Prosiding farmasi*. 2020;6(1):734-37.
23. Guimarães AC, Meireles LM, Lemos MF, Guimarães MCC, Endringer DC, Fronza M, et al. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*. 2019;24(1): 2471; doi:10.3390/molecules24132471