

BEBERAPA BAHAN ALAM SEBAGAI ALTERNATIF

BAHAN PENCEGAH KARIES

Meirina Gartika, Mieke Hemiawati Satari

Alamat : Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Anak Universitas Padjadjaran, jl. Sekeloa Selatan no.1 Bandung. Email : okegartika@yahoo.com. Hp. 0811204863.

Abstrak

Penggunaan obat-obatan dan suplemen diet yang berasal dari bahan alam telah berkembang cepat akhir-akhir ini. Bahan alam kaya akan berbagai metabolit sekunder seperti tanin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid yang memiliki efek antimikroba. Senyawa aktif bahan tersebut dapat menyebabkan inaktivasi enzim glukosiltransferase. Bakteri utama penyebab karies adalah *Streptococcus mutans* yang memproduksi enzim glukosiltransferase dan dikenal sebagai faktor virulensi dalam patogenesis karies gigi. Enzim glukosiltransferase mengkatalis pembentukan glukosa larut dan tidak larut dari sukrosa dan berkontribusi terhadap pembentukan komposisi matriks polisakarida plak gigi, sehingga dapat dianggap sebagai bahan pencegah karies. Berbagai bahan alam tersebut diantaranya ekstrak kunyit, jus *cranberry*, propolis, *chitosan*, dan ekstrak teh hitam. Terdapat persamaan mekanisme kerja dari bahan-bahan tersebut yang memiliki efek antimikroba, sehingga dapat digunakan untuk bahan pencegah karies.

Kata kunci : bahan alam, glukosiltransferase, bahan pencegah karies

Abstract

The use of drugs and dietary supplements derived from natural products has grown rapidly now. Natural ingredients rich in various secondary metabolites such as tannins, terpenoids, alkaloids, and flavonoids which have antimicrobial effects. Active compounds can lead to inactivation of the enzyme glucosyltransferase. The main bacterial cause of dental caries is *Streptococcus mutans* that produces enzymes glukosiltransferase known as virulence factors in the pathogenesis of dental caries. Gulkosiltransferase enzyme catalyzes the formation of soluble and insoluble glucans from sucrose and contribute to the biofilm formation as known dental plaque that consist of polysaccharide matrix. There some natural products that have antimicrobial effect such as turmeric extract, cranberry juice, propolis, chitosan, and black tea extracts. There is a similarity mechanism action of these natural products that have antimicrobial effects, so it can be used for caries prevention materials.

Keywords: natural products, glucosyltransferase, caries prevention materials

Pendahuluan

Rongga mulut terdiri dari berbagai spesies mikroba yang tumbuh dalam biofilm. Beberapa hipotesis yang berkaitan dengan pembentukan karies gigi telah diajukan. Plak spesifik diduga melibatkan sejumlah spesies bakteri dalam mulut, sementara plak non spesifik menunjukkan bahwa karies gigi akibat kombinasi aktivitas seluruh mikroflora mulut. Karies gigi terjadi karena pergeseran keseimbangan mikroflora terhadap keadaan kariogenik sebagai respon terhadap perubahan keadaan lokal lingkungan.¹

Streptococcus mutans juga *Streptococcus sobrinus* merupakan bakteri yang paling utama sebagai penyebab karies gigi. Tapi sebenarnya lesi karies berisi berbagai spesies bakteri yang luas, tapi kebanyakan belum dieksplorasi. Beberapa bakteri yang berpengaruh pada perkembangan karies adalah *A. mitis*, *Streptococcus salivarius*, dan *Streptococcus anginosus*, begitu pula *Enterococcus faecalis*, *A. viscosus*, *Actinomyces naeslundii* dan beberapa laktobasilus. Becker dkk memeriksa 23 spesies bakteri berbeda yang dihubungkan dengan karies gigi, diantaranya yaitu *Actinomyces gerencseriae*, *Bifidobacterium*, *S. mutans*, *Veilonella*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus parasanguinis* dan *Lactobacillus fermentum*.¹

Karies gigi merupakan destruksi terlokalisir pada gigi oleh asam organik yang dihasilkan dari fermentasi karbohidrat oleh *Streptococcus mutans*, yang dikenal sebagai penyebab karies gigi karena bersifat asidogenik dan asidurik. Jumlah yang tinggi dari bakteri tersebut di dalam plak berhubungan dengan risiko karies gigi yang tinggi.¹

Streptococcus mutans merupakan Gram positif, spesies fakultatif anaerob yang sering ditemukan di dalam rongga mulut manusia dan merupakan penyebab signifikan terhadap karies gigi. Bakteri ini berperan penting dalam metabolisme sukrosa menjadi asam laktat, yang menyebabkan demineralisasi email gigi. Selain itu juga berperan dalam kolonisasi

awal, yang membentuk plak dan melekat pada gigi.² Langkah awal pembentukan plak gigi adalah perlekatan bakteri mulut terhadap pelikel yang menutupi seluruh permukaan email. Proses ini melibatkan beberapa kekuatan, termasuk ikatan hidrofobik dan ion, juga interaksi *lectin-like* antara adhesin bakteri dan reseptor komplementer pada permukaan host. Beberapa adhesin spesifik dikenal berada pada permukaan *Streptococcus mutans*.³

Karies gigi merupakan penyakit yang paling sering dilakukan penelitian. Asam metabolik yang dihasilkan oleh *Streptococcus mutans* dapat menyebabkan demineralisasi permukaan gigi dan berperan pada karies gigi. Enzim glukosiltransferase yang dihasilkan bakteri ini merupakan kunci pada proses tersebut. Bakteri tersebut menggunakan sukrosa sebagai substrat untuk mensintesis glukosa larut dan tidak larut air. Penelitian kinetik dengan ion metal divalen memperlihatkan kekuatan ikatan afinitas terhadap glukosiltransferase. Ion-ion metal juga menunjukkan kekuatan penghambatan dari enzim.⁴

Pencegahan karies didasarkan pada penghambatan perlekatan *Streptococcus mutans* terhadap hidroksiapatit dan kolonisasi pada permukaan gigi. Tujuan ini sebelumnya dicapai dengan penggunaan antibodi yang menyerang senyawa *adhesin-binding domain* seperti poli-L asam aspartat, poli-L asam glutamat, fitat dan eter selulosa non ion yang memodifikasi permukaan hidroksiapatit sehingga mengurangi perlekatan *Streptococcus mutans*.³

Penemuan kekuatan penyembuhan dari tanaman berupa hasil terapeutik telah dicampur untuk pengobatan atau menghilangkan simptom. Meskipun kejadian keracunan juga masih sering terjadi. Sekarang ini, seperempat sampai setengah dari seluruh obat-obatan farmasi yang diteliti di Amerika Serikat berasal dari tanaman. Beberapa digunakan sebagai antimikroba, karena dapat mengurangi jumlah bakteri dan jamur.⁵

Para ahli mikrobiologi mempunyai dua alasan untuk tertarik di dalam topik antimikroba ekstrak tanaman. Pertama, bahwa fitokimia menemukan gudang obat-obatan antimikroba yang biasa diresepkan oleh dokter, bahkan beberapa telah diuji coba ke manusia. Dilaporkan bahwa dua atau tiga antibiotik berasal dari mikroorganisme yang telah dipublikasi beberapa tahun. Kedua, masyarakat lebih waspada terhadap masalah penggunaan resep berlebih dan kesalahan penggunaan antibiotik.⁵

Patogenesis Karies Gigi

Pembentukan biofilm merupakan faktor virulensi dari *Streptococcus mutans*. Bakteri dapat melekat dan menetap di dalam rongga mulut. Giacaman dkk menemukan bahwa tidak ada hubungan antara jumlah *Streptococcus mutans* di dalam saliva dengan status karies tetapi terdapat hubungan antara jumlah biofilm yang dibentuk oleh bakteri tersebut dengan insidensi karies. Ketika sel-sel tumbuh di dalam biofilm, memungkinkan efek antimikroba berkurang dan terbatas hanya pada permukaan superfisial.¹

Sukrosa sangat penting bagi pembentukan biofilm *Streptococcus mutans*. Adanya sukrosa menurunkan kemampuan antimikroba terhadap bakteri, karena pembentukan biofilmnya. Bila tidak ada sukrosa, bakteri tersebut melekat menggunakan ion dan interaksi *lectin-like*. Protein antigen P streptokokus melekat pada glikoprotein aglutinin (SAG) dan permukaan *SAG-coated*. Glukan disintesis oleh glukosiltransferasi (gtf) dengan adanya sukrosa. Kemudian membentuk lapisan ekstraseluler yang mempromosi adhesi dan pembentukan biofilm.¹

Streptococcus mutans dapat memetabolisme karbohidrat secara luas. Analisis genom telah menemukan gen-gen untuk transpor dan metabolisme glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa, galaktosa, manosa, selobiosa, B-glukosid, trehalosa, maltosa, raffinosa, ribulosa, meloniosa, strach dan isomaltosakarida. Fermentasi semua karbohidrat ini merupakan energi untuk sel dan menghasilkan asam. *Streptococcus mutans* merupakan heterofermentatif yang menghasilkan hasil akhir asam campuran, sehingga memberikan keuntungan pertumbuhan untuk bakteri plak lainnya.¹

Streptococcus mutans diduga sebagai mikroba utama dalam patogenesis karies gigi meskipun mikroorganisme asidogenik lain dapat terlibat. Bakteri ini memiliki dua tanda virulensi yang terlibat di dalam pembentukan biofilm kariogenik pada permukaan gigi (1) sintesis polisakarida ekstraseluler (glukan) melalui glukosiltransferase dan (2) kemampuan memproduksi dan mentoleransi asam. Glukosiltransferase yang dihasilkan bakteri tersebut ditemukan dalam saliva manusia dan juga dihubungkan dengan pelikel yang dibentuk pada permukaan gigi. Perlekatan permukaan glukosiltransferase menyebabkan sintesis kompleks glukan dari sukrosa, dimana terjadi akumulasi bakteri pada permukaan gigi dan membangun struktur integritas biofilm. Selanjutnya, produksi asam oleh bakteri menyebabkan nilai pH yang rendah di dalam matriks plak, sehingga menyebabkan demineralisasi email gigi dan seleksi organisme yang toleran terhadap asam, diantaranya *Streptococcus mutans* itu sendiri.⁶

Senyawa Antimikroba Bahan Alam

Bahan alam terutama tanaman memiliki kemampuan mensintesis substansi aromatik seperti fenol atau derivat substitusi oksigen. Kebanyakan metabolit sekunder sebanyak hampir 12.000 telah diisolasi, jumlah yang diperkirakan kurang dari 10% totalnya.

Dalam banyak kasus, bahan ini membuat tanaman memiliki mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme, serangga dan herbivora. Beberapa seperti terpenoid menyebabkan tanaman mempunyai bau, yang lain seperti kuinon dan tanin bertanggung jawab terhadap pigmen tanaman. Beberapa senyawa berfungsi sebagai tepung tanaman seperti terpenoid kapsaisin dari cabe, dan beberapa herbal yang sama digunakan manusia untuk bumbu makanan, juga berguna sebagai senyawa obat.⁵

Kelompok utama senyawa antimikroba diantaranya fenol dan polifenol (fenol sederhana, asam fenol, kuinon, flavon, flavonoid, flavonol, tanin, kumarin, terpenoid dan minyak esensial, alkaloid, lektin dan polipeptid serta campurannya. Beberapa bioaktif fitokimia paling sederhana terdiri dari substitusi cincin fenol tunggal. Sinamik dan asam kafein merupakan kelompok paling sering dari turunan senyawa fenilpropan yang dalam keadaan oksidasi tertinggi. Herbal yang umum seperti *tarragon* dan *thyme* berisi asam kafein, dimana efektif terhadap virus, bakteri dan jamur.⁵

Beberapa produk natural yang diteliti sebagai bahan anti karies adalah :

1. *Xanthorrhizol*, ekstrak kunyit.

Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* diisolasi dari fraksi etil asetat dengan ekstrak metanol kunyit Jawa (*Curcumaxanthorrhiza* Roxb.), yang merupakan obat Indonesia. *Xanthorrhizol* adalah komponen aktif utama dari Xan, dan memiliki aktivitas farmakologi sebagai anti metastatis dan efek penghambatan pada nefrotoksisitas, juga efek anti inflamasi dan anti kanker. Aktivitas bakterisidal dari Xan terhadap patogen mulut juga dilaporkan dengan menggunakan planktonik dan model biofilm sederhana. Xan dapat mengurangi pembentukan biofilm *Streptococcus mutans*.²

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa larutan obat kumur berisi 2mg/ml *Epigallocatechin gallate* (ekstrak teh hijau) dapat menghambat asidogenesis plak gigi.

Meskipun ekstrak teh juga memperlihatkan penghambatan produksi asam dan memunyai aktivitas antiglukosiltransferase, konsentrasi minimum kira-kira 1 mg/ml dari ekstrak natural ini diperlukan untuk menghasikan efek antibakteri pada biofilm *Streptococcus mutans*. Sebaliknya, Xan memiliki efektifitas antibakteri yang sangat baik terhadap biofilm *Streptococcus mutans* pada konsentrasi yang relatif lebih rendah. Efek antibakteri Xan juga lebih baik daripada ekstrak natural lainnya seperti *catechin* dan ekstrak teh oolong.²

2. Jus Cranberry.

Jus cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait., *Ericaceae*) dan ekstrak kasar hidroalkohol menunjukkan penghambatan pembentukan biofilm dari bakteri mulut dan dapat mengurangi perlekatan sel-sel *Streptococcus mutans* ketika digunakan pada *saliva coated hydroxyapatite* dan menghambat aktivitas glukosiltransferase secara in vitro.¹ Buah *cranberry* kaya akan potensi bioaktif senyawa fenol khususnya flavonoid. Flavonoid merupakan grup polifenol senyawa natural yang secara universal terdapat dalam tanaman, yang membentuk tulang punggung C6-C3-C6 flavon, dimana jembatan tiga karbon diantara grup fenil umumnya disiklik dengan oksigen. Empat kelompok fenol yang teridentifikasi di dalam *cranberry* termasuk asam fenol, antosianin, flavonol dan flavan-3-ols, yang terdiri dari kelompok monomer dan polimer dari proantosianidin. Sekarang ini, ditunjukkan bahwa ekstrak *cranberry* berisi campuran flavonol atau proantosianidin yang mengurangi sintesis glukukan dan asidogenesis *Streptococcus mutans*.⁶

3. Propolis (produk lebah).

Propolis merupakan produk natural non toksik dari lebah yang menunjukkan pengurangan insidensi karies gigi pada tikus dan akumulasi plak supragingiva secara in vivo. Sekarang ini masih diteliti secara in vitro efek 30 senyawa yang teridentifikasi di

dalam propolis terhadap aktivitas glukosiltransferase dan viabilitas *Streptococcus mutans*. Dua senyawa yaitu apigenin dan tt-farnesol masing-masing menunjukkan aktivitas biologis yang berpotensi sebagai bahan anti karies/anti plak. Apigenin (4',5,7-trihidroksiflavon) mempunyai potensi penghambatan gtf B dan C, dan secara selektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.⁷

Senyawa tt-farnesol merupakan *sesquiterpene alcohol* (3,7,11-trimetil-2,6,10-dodekatrin-1-ol), yang menunjukkan penghambatan metabolisme *Streptococcus mutans* dengan pengrusakan membran bakteri sehingga mempengaruhi sintesis glukosa. Tt-farnesol juga menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Streptomyces tendae* dan *Saccharomyces cerevisiae*, tetapi tidak terhadap *Escherichia coli*. Apigenin dan tt-farnesol bersifat non-mutagen dan non-toksik baik in vitro maupun in vivo. Kedua senyawa tersebut baik sendiri atau kombinasi memperlihatkan efek kariostatik pada tikus tanpa efek yang signifikan pada viabilitas mikrobial rongga mulut binatang percobaan.⁷

4. Kitosan

Kitosan mempunyai efek antimikroba yang tinggi terhadap *Streptococcus mutans* secara in vitro dan signifikan mengurangi pembentukan plak in vivo, meskipun tidak sama dengan 1% klorheksidin. Kitosan juga mengurangi perlekatan seluler ketika digunakan pada *coated glass pre-treated* saliva manusia. Kitosan ditemukan juga bekerja sinergis dengan klorheksidin.³

Kitosan, derivat kitin dengan N-deasetilasi dapat menstimulasi regenerasi jaringan lunak mulut, mencegah aksi dari asam organik dan menunjukkan aksi bakterisidal terhadap beberapa patogen. Efektifitas berat molekul rendah kitosan (LMWC) dan derivatnya N-karboksimetil kitosan (NCCMC) serta imidazolil kitosan (IMIC) mencegah *Streptococcus mutans* melekat pada hidroksiapatit. Efek kitosan baik terhadap sukrosa dependen maupun

independen juga diteliti. Ketika *saliva-coated* dan *uncoated* diberi kitosan terjadi penurunan adsorpsi *Streptococcus mutans* sebanyak 47-66%.³

Kitosan merupakan polisakarida natural yang berasal dari kitin dengan deasetilasi N. Kitosan mempunyai pKa 6.3 yang sangat cocok dengan buffer mulut. Nilai pH yang tinggi cukup untuk mencegah aksi asam organik pada permukaan gigi dan juga dapat menstimulasi regenerasi jaringan lunak mulut. Pada keadaan pembedahan khusus, dapat meregenerasi jaringan tulang.³

Kitosan menunjukkan aksi bakterisidal terhadap beberapa patogen termasuk *Streptococcus mutans*. Mekanisme aksinya terdiri dari inaktivasi enzim, ion-ion metal esensial dan pembentukan kompleks polielektrolit dengan senyawa permukaan bakteri.³

5. Ekstrak Teh Hitam

Teh hitam (*Camellia sinensis*) dapat meningkatkan aktivitas bakteri karena mengandung *galloyl esters* dari *epicatechin*, *epigallocatechin* dan *galocatechin*. Berbagai senyawa di dalam teh hitam, bekerja untuk aktivitas pencegahan dengan penghambatan amilase saliva dan glukosiltransferase. Disamping itu juga menghambat perlekatan *Streptococcus mutans*. Kumur-kumur dengan teh dapat menghambat pemecahan partikel zat tepung dari makanan di dalam mulut sehingga menyebabkan efek antiplak.⁹ Linke dan LeGeros menunjukkan bahwa ekstrak teh hitam mengurangi pembentukan karies di dalam model karies gigi hamster.¹

Pembahasan

Karies gigi merupakan salah satu penyakit yang paling sering terjadi di seluruh belahan dunia. Salah satu pendekatan untuk mengurangi insidensi kerusakan gigi adalah mengembangkan bahan terapeutik untuk pencegahan pembentukan matriks plak yang terdiri

dari 30-40% polisakarida. Kebanyakan fraksi polisakarida plak disintesis dari sukrosa oleh glukosiltransferase, meskipun fruktan juga terlibat. Karies gigi terjadi pada *interface* pelikel plak, dan secara enzimatik glukosiltransferase aktif berada dalam pelikel. Oleh karena itu perlu menentukan efek potensi hambatan perlekatan permukaan glukosiltransferase.⁹

Penggunaan produk natural merupakan strategi yang paling berhasil untuk penemuan obat-obatan, terdapat 78% antibiotik dan 61% obat antitumor baru yang dipublikasi oleh *Food and Drug Administration*.⁹ Beberapa bahan alam yang telah dilakukan penelitian dan pengembangan serta memiliki potensi sebagai bahan pencegah karies diantaranya ekstrak kunyit, teh hitam, jus cranberry, kitosan, serta propolis (produk lebah).

Metabolisme antikaries dari bahan antimikroba natural dapat dibagi ke dalam 2 mekanisme. Pertama dengan pengrusakan integritas dinding sel dan menghambat adhesi bakteri. *Streptococcus mutans* yang terekspos Xan (ekstrak kunyit) menunjukkan kerusakan lapisan peptidoglikan dan meningkatkan kematian sel dibanding dengan kelompok kontrol. Penelitian sebelumnya memperlihatkan juga bahwa ekstrak kulit buah anggur merupakan bahan antibakteri natural yang dapat melemahkan fungsi fisiologis aktif enzim di dalam sel mikroorganisme dan menghancurkan fungsi dinding sel.²

Meskipun mekanisme biologis dari Xan belum jelas, penelitian menunjukkan bahwa Xan juga mengganggu atau merusak lapisan peptidoglikan. Komponen aktif utama dari Xan adalah *Xanthorrhizol*, yang terdiri dari fenol dan rantai hidrokarbon. Diantara struktur kimia ini, gugus hidroksil bertanggungjawab terhadap bagian aktif utama antibakteri. Efek antibakteri *xanthorrhizol* pada planktonik *Streptococcus mutans* hampir hilang ketika residu hidroksil dari senyawa tersebut diasetilasi selama proses ekstraksi.²

Beberapa senyawa dari propolis menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*, tapi tidak satupun yang sepotensial klorheksidin, yang secara klinis terbukti sebagai

antimikroba. Berdasarkan tes pada beberapa senyawa, tt-farnesol merupakan bahan antibakteri yang efektif dan menyebabkan penurunan jumlah *Streptococcus mutans* yang cepat. Farnesol ini merusak fungsi membran sehingga mengurangi viabilitas sel. Farnesol juga merupakan bahan anti jamur dengan memperlihatkan aktivitas molekul *quorum-sensing*. Menurut Amoros dkk dan Bonhevi, aktivitas biologis propolis sebagai pencegah karies lebih dihubungkan dengan beberapa senyawa sekaligus dibanding kalau senyawa tunggal. Apigenin dan tt-farnesol merupakan senyawa aktif propolis, tapi belum ada bukti bahwa kedua senyawa tersebut memiliki potensi toksik seluler dan efek hemolitik.¹⁰

Penelitian ekstrak cranberry menunjukkan campuran flavonol atau proantosianidin dapat menghambat sintesis glukon dengan adsorpsi permukaan gtf B dan C, dan asidogenitas *Streptococcus mutans* dalam biofilm. Ekstrak flavonoid cranberry berisi campuran kompleks polifenol berat molekul rendah dan tinggi. Pada umumnya, flavonol mirisetin (aglikon) dan Q-3-arabinofuranosid dan prosianidin A2 menunjukkan aktivitas biologi yang sedang secara *in vitro*, dimana asam fenol menunjukkan efek penghambatan yang tidak berarti.⁶

Pada mulanya diperiksa efek senyawa cranberry pada aktivitas adsorpsi gtf pada pelikel saliva yang terbentuk pada permukaan hidroksiapatit. Adsorpsi permukaan enzim gtf secara klinis berhubungan karena glukon yang disintesis oleh enzim-enzim yang melekat pada permukaan serta menghambat akumulasi *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi dan pembentukan matriks polisakarida dari biofilm. Oleh karena itu, salah satu strategi kontrol pembentukan biofilm dan karies gigi adalah menghambat aktivitas perlekatan permukaan gtf.⁶

Efek senyawa cranberry terhadap sifat asidogenik dan asidurik *S. mutans* diperiksa dengan pemeriksaan *glycolytic pH-drop* dan aktivitas F-ATPase. Sensitisasi asam diperlihatkan dengan pemeriksaan tersebut berupa sel yang diberikan glukosa berlebih.

Streptococcus mutans secara cepat mendegradasi glukosa dan pH yang lebih rendah dari suspensi sampai tidak dapat lagi mempertahankan pH sitoplasmatik yang cocok dengan aktivitas enzim glikolitik.⁶

Beberapa hasil penelitian menunjukkan peran antibakteri polifenol yang dapat mengurangi pertumbuhan bakteri dan perlekatan pada permukaan gigi, juga menunjukkan efek penghambatan aktivitas enzimatis dari glukosiltransferase dan amilase. Terdapat persamaan mekanisme kerja dari bahan-bahan tersebut yang memiliki efek antimikroba, sehingga dapat digunakan untuk bahan pencegah karies.

Daftar Pustaka

1. Lester, K. Zoocin A and lauricidin in combination selectively inhibit *Streptococcus mutans* in biofilm model. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy at the University of Otago, Dunedin, New Zealand. November 2010: 1-57.
2. Kim J.E., H.E Kim, J.K Kwang, H.J Lee, H.K Kwon, B.I Kim. Antibacterial characteristic of curcuma xanthorrhiza extract on *Streptococcus mutans*. *The Journal of Microbiology*, April 2008; 46(2): 228-232.
3. Tarsi, R., R.A.A Muzzarelli, C.A Guzman, C. Pruzzo. Inhibition of *Streptococcus mutans* adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight chitosans. *Journal of Dental Research*. 1997; 76: 665-672.
4. Devulapalle, K.S., G. Mooser. Glucosyltransferase inactivation reduces dental caries. *J Dent Res*. 2001; 80(2): 466-469.
5. Cowan, M.M. Plant product as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, october 1999; 12(4): 564-582.
6. Gregoire, S., A.P Singh, N. Vorsa, H. Koo. Influence of cranberry phenolic on glucan synthesis by glucosyltransferases and *Streptococcus mutans* acidogenicity. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072. April 2007.
7. Koo, H., M.F. Hayacibara, B.D. Schobel, J.A. Cury, P.L. Rosalen, Y.K. Park, A.M. Vacca-Smith, W.H. Bowen. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm accumulation and polysaccharide production by apigenin and tt-farnesol. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52: 782-789.
8. Ferrazano, G.F., Ivana A., Aniello I., Armandi Z., Gabriele P., Antonio P. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: Review. *J Molecules* ISSN 1420-3049. 2011; 16: 1486-1507.
9. Koo, H., P.L Rosalen, J.A Curry, Y.K Park, W.H Bowen. Effects of Compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and glucosyltransferase activity. *J Antimicrobial agents and chemotherapy*. May 2002; 46(5): 1302-1309.