

NARATIVE REVIEW

Pemanfaatan komponen biologi aktif tanaman sirih hijau (*Piper betle L.*) sebagai antibakteri dalam pencegahan karies gigi

Jeffrey*✉, Vinna Kurniawati Sugiaman**

*Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

**Departemen Oral Biologi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*Jl Terusan Jenderal Sudirman, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia; ✉ koresponden: Jeffrey_dent2000@yahoo.com

ABSTRAK

Karies gigi merupakan penyakit jaringan keras yang paling sering terjadi di rongga mulut dan menjadi masalah kesehatan, terutama pada anak-anak berumur antara 5-12 tahun, baik di negara maju maupun negara berkembang. Proses pembentukan karies gigi disebabkan oleh *Streptococcus mutans* yang berkoloni membentuk biofilm pada permukaan gigi dan melakukan metabolisme sukrosa. Hal ini dapat menurunkan pH di rongga mulut karena bersifat asam sehingga menyebabkan terjadinya demineralisasi pada permukaan email gigi dan selanjutnya membentuk kavitas. Pengendalian biofilm umumnya menggunakan bahan dasar *Chlorhexidine gluconate* namun sayangnya memiliki berbagai efek samping maka perlu dikembangkan suatu upaya pencegahan sehingga mendapat alternatif bahan alami potensial dalam jangka panjang, ideal, dan aman dengan efek samping yang minimal serta dapat menggantikan bahan kimia. Tujuan naratif review ini adalah memaparkan sirih hijau sebagai salah satu bahan alam pengganti bahan kimia pengendali biofilm. Komponen biologi aktif daun sirih hijau seperti minyak atsiri golongan fenol, flavonoid, dan tanin memiliki sifat antibakteri yang bermanfaat untuk mencegah bau mulut, memelihara kesehatan gigi, memperkuat gusi, dan memperbaiki sistem pencernaan. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dapat bermanfaat sebagai agen pencegahan karies karena kemampuannya dalam menghambat pembentukan biofilm pada permukaan gigi. Kesimpulan: daun sirih hijau aman dengan efek samping minimal sehingga dapat digunakan sebagai alternatif antibakteri dalam pencegahan pembentukan biofilm dan karies gigi.

Kata kunci: antibakteri; biofilm; karies; sirih hijau (*Piper betle L.*); *Streptococcus mutans*

ABSTRACT: Utilization of the biologically active components of the green betel plant (*Piper betle L.*) as an antibacterial in preventing dental caries. Dental caries is the most common hard tissue disease in the oral cavity and is a health problem, especially in children aged between 5-12 years, both in developed and developing countries. *Streptococcus mutans* cause the process of forming dental caries. The colonists form biofilms on the tooth surface and metabolize sucrose. The biofilms can lower the pH in the oral cavity because it is acidic, causing demineralization on the tooth enamel surface and then forming cavities. Biofilm control generally uses basic materials, *Chlorhexidine gluconate*, but unfortunately, it has various side effects. It is necessary to develop a prevention effort so that potential alternative natural ingredients are obtained in the long term, are ideal, are safe with minimal side effects, and can replace chemicals. The purpose of this narrative review is to describe green betel as a natural ingredient to replace biofilm controlling chemicals. The active biological components of green betel leaves, such as essential oils of the phenol group, flavonoids, and tannins, have antibacterial properties useful for preventing bad breath, maintaining healthy teeth, strengthening gums, and improving the digestive system. Leaves green leaves (*Piper betle L.*) can be useful as a caries prevention agent because they inhibit biofilm formation on tooth surfaces. Conclusion: green betel leaf is safe with minimal side effects so it can be used as an antibacterial alternative in the prevention of biofilm formation and dental caries. antibacterial in preventing biofilm formation and dental caries.

Keywords: antibacterial; biofilms; caries; green betel (*Piper betle L.*); *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan penyakit infeksi multifaktorial yang dipengaruhi oleh gaya hidup, genetik, pendidikan, sosial ekonomi, dan kondisi lingkungan.¹ Penyakit ini menjadi keluhan utama

sebagian besar masyarakat Indonesia baik pada usia anak maupun dewasa. Berdasarkan data Riskesdas diketahui bahwa masalah gigi dan mulut ini meningkat dari tahun ke tahun, peningkatan terjadi dari 23,2% menjadi 25,9%

yang diperoleh dari data Riskesdas tahun 2007 dan 2013. Peningkatan masalah kesehatan gigi dan mulut menjadi 57,6% pada tahun 2018 pada penduduk Indonesia.²

Menurut data survei *World Health Organization*, karies gigi dialami oleh anak di seluruh dunia sebesar 60–90%. Hal ini juga didukung oleh data Riskesdas tahun 2018, yang menyatakan bahwa prevalensi karies gigi pada anak usia 3-4 tahun di Indonesia mencapai 81,5% dengan jumlah yang terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. WHO *global oral health menyatakan* bahwa setiap anak memiliki lebih dari satu gigi yang rusak di rongga mulutnya.^{2,3}

Karies gigi merupakan salah satu masalah utama kesehatan gigi dan mulut di Indonesia yang pengobatannya memerlukan biaya cukup mahal.⁴ Penyakit ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu mikroorganisme (*Streptococcus mutans*), substrat, gigi dan saliva (*host*), dan waktu. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dikatakan sebagai mikroorganisme pionir dalam pembentukan biofilm dan karies gigi, karena dapat memfermentasi karbohidrat dan membentuk asam secara cepat.^{4,5}

Di bidang kedokteran gigi, *Chlorhexidine gluconate* (CHX) sangat umum digunakan sebagai agen antimikroba karena kemampuannya dalam menurunkan plak dan bakteri patogen. Penggunaan CHX ini menyebabkan efek yang kurang baik pada jaringan yg sehat dan juga dapat meningkatkan terjadinya hipersensitifitas, sehingga perlu dikembangkannya agen baru yang dapat digunakan untuk mencegah perkembangan biofilm.^{6,7}

Pemanfaatan tanaman herbal dapat digunakan untuk pencegahan terjadinya karies gigi, yaitu dengan memanfaatkan efek antimikroba yang dimiliki oleh kandungan biologi aktifnya.¹ Berbagai tanaman herbal telah diteliti dan terbukti memiliki efek antibakteri, salah satunya adalah tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* yang telah teruji sebelumnya.⁸ Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung komponen biologi aktif, diantaranya yaitu: minyak atsiri, *tannin*, *saponin*, *flavonoid*, *polifenol*, *terpenoid*, *steroid*, *seskuiterpen*, *diastase*,

gula, dan pati. Beberapa kandungan biologi aktif tersebut memiliki sifat antibakteri yang kuat dan sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri.^{9,10}

Sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat dimanfaatkan sebagai agen pencegahan karies karena kemampuannya dalam menghambat pembentukan biofilm yang merupakan lapisan tipis pada permukaan gigi. Lapisan tipis tersebut dibentuk oleh koloni mikroorganisme. Pemanfaatan obat tradisional berbahan alami secara umum kini mulai dikembangkan karena memiliki efek samping yang minimal. Bahan alami dirasa lebih aman karena berasal dari bahan alam dibanding obat modern berbahan kimia maka bahan alam kini dapat menjadi alternatif untuk dimanfaatkan sebagai bahan antimikroba untuk mencegah pembentukan biofilm.^{11,12}

KARIES

Karies gigi merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh aksi dari *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* yang dapat menguraikan karbohidrat pada biofilm plak di permukaan gigi. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan pH sampai 5,5 dalam waktu 20-50 menit yang dapat menyebabkan terjadinya proses demineralisasi oleh asam dan akhirnya menyebabkan terlarutnya struktur gigi.¹³⁻¹⁶

Kariesgigiterbentukkarena ketidakseimbangan homeostasis di rongga mulut, seperti perubahan mikroorganisme yang dipengaruhi oleh laju saliva, komposisi saliva, paparan fluor, konsumsi gula, dan juga faktor pencegahan. Kondisi tersebut ditandai dengan peningkatan jumlah *Streptococcus mutans* yang kemudian akan berkoloni pada permukaan email gigi untuk membentuk biofilm.^{16,17}

Biofilm gigi melekat pada permukaan gigi yang dibentuk oleh koloni berbagai species mikroorganisme, khususnya bakteri yang mensekresikan polisakarida atau yang dikenal dengan *Extracellular polymeric substance* (EPS) yang akan menyelubungi bahan organik. Matriks ini berbentuk struktur berupa benang-benang bersilang yang berfungsi sebagai alat pelekat dari biofilm. *Extracellular polymeric substance* sebagian

besar disintesis oleh *glukosiltransferase* (GTF) dan *fruktosiltransferase* (FTF) bakteri, tidak larut, memiliki struktur yang kompleks, dan membantu perlekatan serta akumulasi sejumlah besar *Streptococcus* kariogenik pada gigi. Konsentrasi dan frekuensi paparan sukrosa yang lebih tinggi dapat meningkatkan konsentrasi EPS dalam matriks biofilm, menurunkan pH secara cepat, dan meningkatkan demineralisasi enamel bila dibandingkan dengan biofilm yang terbentuk tanpa adanya sukrosa.^{13,18,19}

Biofilm yang merupakan massa padat terbentuk karena adanya bakteri pada permukaan gigi yang berkembang biak pada matriks biofilm, seperti protein, polisakarida interselular bakteri, dan asam nukleat yang dikeluarkan secara ekstraselular. Proses pembentukan biofilm dimulai dengan dilapisinya permukaan gigi dengan *acquired pellicle* yang dibentuk dari komponen saliva yang melekat pada permukaan gigi. Pada awalnya interaksi ini bersifat reversibel yang kemudian menjadi ireversibel ketika terjadi ikatan kovalen antara perlekatan protein bakteri dengan reseptor pada *acquired pellicle*.^{13,18,19}

Kondisi ini penting pada proses pembentukan karies gigi, karena *S. Mutans* yang berkoloni pada permukaan gigi akan melakukan metabolisme sukrosa lebih cepat daripada bakteri lain di rongga mulut sehingga akan menghasilkan asam yang dapat menurunkan pH di rongga mulut, serta menyebabkan terjadinya demineralisasi pada permukaan email gigi dan selanjutnya membentuk kavitas.¹³⁻¹⁶

ETIOLOGI

Sejumlah spesies *Streptococcus* bersifat patogen terhadap manusia dan hewan. Bakteri gram positif ini umumnya tampak sebagai pasangan atau rantai, bulat berbentuk ovoid, bernutrisi, dengan metabolisme fermentasi dan banyak di antaranya membentuk kapsul. *Streptococcus mutans* dianggap sebagai etiologi karies gigi dari semua *Streptococcus* oral.^{20,21}

Streptococcus mutans menghasilkan polimer glukosa α -(1-3) dan α -(1-6) yang disintesis oleh

GTF yang dikode oleh gen *gtfB*, *gtfC*, dan *gtfD*. Gen *gtfB* dan *gtfC* mengkodekan enzim GTF-I (*insoluble*) dan GTF-SI, mensintesis glukosa- α -(1-3) yang tidak larut dalam air. Enzim GTF-S (*soluble*), dikode oleh *gtfD*, bertanggung jawab untuk sintesis glukosa α -(1-6) yang larut dalam air. Glukosa yang tidak larut dalam air secara signifikan membentuk biofilm plak yang memfasilitasi akumulasi biofilm yang stabil diperantarai oleh protein pengikat glukosa. Pembentukan biofilm dipengaruhi oleh jumlah GTFB dan GTFC yang dihasilkan oleh *S. mutans*, dan keduanya terlibat dalam kariogenesis.^{22,23}

Enzim GTF yang dihasilkan oleh *S. mutans* terdiri atas GTFB yang membentuk polimer glukosa tidak larut, GTFC membentuk campuran glukosa yang tidak larut dan larut, dan GTFD membentuk glukosa larut. *Glukosiltransferase* bertanggung jawab dalam proses pembentukan glukosa dari sukrosa, sehingga berperan penting dalam pembentukan biofilm. Perlekatan bakteri dengan bakteri lain ataupun perlekatannya pada permukaan email gigi terjadi karena adanya sintesis glukosa. Proses ini mendukung terbentuknya biofilm melalui pembentukan koloni bakteri.^{22,23}

BIOFILM

Biofilm merupakan agregasi agregat mikroorganisme yang saling terkait satu sama lain atau ke permukaan dan tertutup dalam EPS yang diproduksi sendiri. Komponen biofilm yang matang kira-kira 5-25% sel bakteri dan matriks *glycocalyx* 75-95%. Biofilm dapat ditemukan hampir di mana saja yang berhubungan dengan kelembaban.^{23,24}

Biofilm berperan penting dalam kedokteran gigi dan telah banyak penelitian tentang biofilm pada gigi. Lebih dari 700 spesies bakteri telah dilaporkan terdapat pada plak gigi. Plak gigi sebenarnya terdiri dari campuran biofilm, namun komposisi biofilm pada plak normal berbeda signifikan dari biofilm plak yang berhubungan dengan penyakit. Perubahan lingkungan setempat mempengaruhi komposisi bakteri biofilm.^{11,17,23,24}

Asam merupakan penyebab utama kerusakan gigi. Spesies bakteri yang tidak berbahaya

dalam biofilm sehat (*S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis*, spesies *Actinomyces*, dan lain-lain) sering menunjukkan toleransi asam yang rendah. Sebaliknya, bakteri yang terlibat dalam karies gigi, seperti *S. sobrinus* dan *S. mutans*, memiliki toleransi asam yang sangat tinggi. Bakteri toleran asam ini yang dapat membentuk biofilm yang sangat kuat.²³⁻²⁶

Biofilm dibentuk oleh beberapa komponen utama, diantaranya adalah matriks ekstraseluler yang dibentuk oleh lapisan glikoprotein dari saliva dan polisakarida mikroba. Kolonisasi awal plak akan menghasilkan produk metabolik yang akan berperan dalam mengubah lingkungan dengan cepat dan selanjutnya akan terbentuk plak yang prosesnya dapat dibagi menjadi tiga fase mayor, yaitu pembentukan pelikel, perlekatan awal dan penambahan bakteri, serta kolonisasi dan pematangan plak.^{17,23,24,26}

Streptococcus mutans sebagai bagian komunitas biofilm akan secara berkelanjutan mensintesis polisakarida dan memetabolisme gula menjadi asam organik. Peningkatan jumlah EPS akan meningkatkan integritas struktural dan stabilitas biofilm, serta memberikan perlindungan kepada bakteri dari pengaruh antimikroba dan serangan lingkungan lainnya. EPS dan matriks biofilm yang bersifat asam sangat penting untuk pembentukan plak gigi yang bersifat kariogenik.²⁵⁻²⁷

SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.)

Pengendalian biofilm umumnya menggunakan bahan dasar *Chlorhexidine gluconate* namun memiliki banyak efek samping sehingga perlu dikembangkan suatu upaya pencegahan dengan menemukan bahan potensial alami alternatif yang dapat digunakan dalam jangka panjang, ideal, aman dengan efek samping yang minimal, sehingga dapat digunakan sebagai pengganti bahan kimia. Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah sirih hijau.^{26,28}

Pencegahan perlekatan dan pertumbuhan berlebihan dari bakteri merupakan metode yang sangat baik untuk mencegah terjadinya karies gigi pada tahap awal pembentukan biofilm. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan

senyawa antibakteri yang berasal dari sirih hijau karena senyawa ini dapat berikatan dengan protein ekstraseluler untuk membentuk senyawa kompleks, mengubah sifat sitoplasma (fisik dan kimiawi), dan melalui ikatan hidrogen dapat mendenaturasi dinding sel bakteri. Aktivitas ini akan menyebabkan lisisnya dinding sel bakteri yang kemudian menyebabkan kematian bakteri melalui terganggunya fungsi transport aktif, permeabilitas selektif, dan sintesis protein.^{13,23,28}

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang termasuk dalam famili Piperaceae, genus Piper, dengan ciri daun berwarna hijau kekuningan sampai hijau tua dan permukaan atas mengkilat merupakan tanaman obat yang populer di Asia. Daun sirih merupakan bagian yang paling banyak digunakan dan dipelajari. Daun sirih hijau berbentuk lonjong, runcing, bertangkai, memiliki panjang 5–18 cm dengan lebar 3–12 cm. Daun sirih hijau mengandung minyak atsiri, memberikan aroma yang bervariasi dari manis hingga pedas. Selain itu, minyak atsiri menghasilkan aroma khas dengan karakteristik kental dan sedikit berminyak. Kebiasaan mengunyah daun sirih di banyak negara yang diyakini bermanfaat untuk menghindari bau mulut, memelihara kesehatan gigi, memperkuat gusi, dan memperbaiki sistem pencernaan.^{29,30}

Kandungan kimia daun sirih hijau yang memiliki peran sebagai antibakteri yaitu minyak atsiri golongan fenol, flavonoid, dan tanin. Sebagai antibakteri fenol dapat mendenaturasi protein dan menurunkan tegangan pada permukaan membran sel sehingga dapat merusak dinding sel bakteri. Metode maserasi yang merupakan salah satu proses ekstraksi dapat dilakukan untuk memperoleh kandungan antibakteri dalam daun sirih hijau. Hal ini bertujuan untuk mengeluarkan senyawa aktif dari tanaman dengan bantuan pelarut. Metode maserasi ini memiliki keuntungan yaitu tidak menyebabkan penguraian dan kerusakan terhadap senyawa aktif antibakteri karena dalam pengerjaannya tidak dipanaskan.²⁹⁻³⁵

Flavonoid dalam daun sirih hijau terdiri dari spektrum aktivitas biologis yang luas, termasuk aktivitas antibakteri, antioksidan, antidiabetes, antikanker, analgesik, antiinflamasi dan

antianxiety. Agen anti inflamasi dari *flavonoid* dari daun sirih hijau yaitu *hesperidin*, dan *diosmin* analog flavonnya. Senyawa ini dapat berperan dalam menghambat mediator proinflamasi seperti proinflamasi E2 dan F2, prostaglandin, dan tromboksan A2. Pada penelitian yang dilakukan secara *in vitro*, diketahui bahwa reaksi-reaksi yang dikatalisis oleh lipooksigenase, siklooksigenase, dan fosfolipase A2 dapat dihambat oleh flavonoid yang berasal dari daun sirih hijau. Flavonoid pada daun sirih hijau juga telah terbukti memiliki sifat anti agregasi dan platelet anti perekat. Flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol terbesar yang memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus. Sebagai antibakteri flavonoid bekerja melalui penghambatan metabolisme energi, sintesis asam nukleat, dan fungsi membran sel.²⁹⁻³³

Mekanisme antibakteri terjadi ketika cincin A dan B yang berperan penting dalam proses interkelas atau pada ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA sehingga dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi metabolit sekunder flavonoid dengan DNA bakteri.³¹⁻³³

Pada penelitian lain menjelaskan bahwa mekanisme kerja flavonoid dengan merusak permeabilitas membrane sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan fosfolipase. Hal ini berkaitan dengan terjadinya kerusakan pada sel bakteri akibat terganggunya permeabilitas membran sel sehingga komponen membran sel berubah yang menyebabkan tidak dapat masuknya nutrisi yang dibutuhkan ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat keluar dari dalam sel. Akibatnya proses metabolisme energi berupa ATP pada mitokondria terganggu. Mekanisme kerja flavonoid juga dengan cara menghambat bakteri dalam penggunaan oksigen dengan cara menghambat sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat efeknya pada bakteri tidak dapat melakukan biosintesis makromolekul atau metabolisme bakteri tidak berjalan.³¹⁻³³

Tanin merupakan senyawa metabolik sekunder pada tumbuhan yang bersifat sebagai

antibakteri, tanin merupakan kandungan tumbuhan yang bersifat fenol. Mekanisme kerja tanin pada daun sirih hijau sebagai antibakteri yaitu mengerutkan membran sel sehingga akan mengganggu permeabilitas sel akibatnya sel bakteri akan menjadi mati atau lisis.^{31-33,35}

KESIMPULAN

Komponen biologi aktif tanaman sirih hijau (*Piper betle L.*) dapat dimanfaatkan sebagai alternatif bahan antibakteri alami yang mampu menghambat pembentukan biofilm. Bahan alami ini aman dan memiliki efek samping minimal sehingga dapat mencegah karies gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mansur EKM. Primary prevention of dental caries: an overview. *Int J Clin Prev Dent* 2020; 16(4): 143-148.
doi: 10.15236/ijcpd.2020.16.4.143
2. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar; 2018. 1
3. WHO. The World Oral Health Report. <http://www.who.int/oralhealth/media/en/orh-report03-en.pdf>; 2003.
4. Listriana. Indek karies gigi ditinjau dari penyakit umum dan sekresi saliva pada anak di Sekolah Dasar Negeri 30 Palembang. *Jurnal Kesehatan Palembang* 2017; 2(12).
5. Rosdiana N, Nasution AI. Gambaran daya hambat minyak kelapa murni dan minyak kayu putih dalam menghambat pertumbuhan streptococcus mutans. *Syiah Kuala Dental Soc Jurnal*. 2016; 1(1):43-50.
6. Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001; 92(4): 446–50.
doi: 10.1067/moe.2001.116812 9.
7. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK. Staining and calculus formation after 0.12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque

- covered surfaces: a randomized trial. *J Appl Oral Sci.* 2010; 18(5): 515–521.
8. Mangesa R, Aloatuan F. Efektifitas dan kandungan fraksi aktif metanol daun sirih hijau (*Piper Betle L*) sebagai antibakteri salmonellatyphi. *Biosf Jurnal Tadris Biol.* 2019; 10(1): 57-65.
 9. Sundari D. Uji Aktivitas antiseptik ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle Linn.*) dalam obat kumur terhadap *staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Kefarmasian Indonesia.* 2019; 1(5): 10-18.
 10. Laila VR. Perbandingan total rendemen dan skrining antibakteri ekstrak etanol daun sirih Hijau (*Piper Betle L.*) secara Mikrodilusi. *Jurnal Sci Appl Technology.* 2017; 2(1): 87-93.
 11. Fatmawati DWA. Hubungan biofilm streptococcus mutans terhadap resiko terjadinya karies gigi. *Stomatognatic.* 2011; 8(3): 127-130.
 12. Ullah R, Zafar MS. Oral and dental delivery of fluoride: a review. *Res Rev Fluoride.* 2015; 48(3): 195-204.
 13. Slobodníková L, Fialová S, Rendeková K, Kováč J, Mučaji P. Antibiofilm activity of plant polyphenols. *Molecules.* 2016; 21(12): 1717. doi: 10.3390/molecules21121717
 14. Kaidonis J, Townsend G. The 'sialo – microbial – dental complex' in oral health and disease. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger.* 2016; 203: 85-89. doi: 10.1016/j.aanat.2015.02.002
 15. Rosier BT, Jager MDe, Zaura E, Bastiaan P, Tribble GD. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases : are we there yet?. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014; 4: 92. doi: 10.3389/fcimb.2014.00092
 16. Ozdemir D. Dental caries and preventive strategies. *J Educ Instr Stud.* 2014; 4(4): 20-24.
 17. Mahmood S, Mahmood Z. Bacterial Biofilms: medical impact, development, control and threats. *Biology, Medicines.* 2015: 395-404.
 18. David J, Bradshaw R. Diet and the microbial aetiology of dental caries: new paradigms. *Int Dent J.* 2013; 63(s2): 64-72.
 19. Ito T, Ichinosawa T, Shimizu T. Streptococcal adhesin sspa/b analogue peptide inhibits adherence and impacts biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS ONE.* 2017; 12(4): 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0175483
 20. Abachi S, Lee S, Rupasinghe HPV. Molecular mechanisms of inhibition of streptococcus species by phytochemicals. *Molecules.* 2016; 21(2): 215. doi: 10.3390/molecules21020215
 21. Duzgunes N. Medical microbiology and immunology for dentistry. Quintessence Publishing Co Inc; 2016; 21(2): 215. doi: 10.3390/molecules21020215
 22. Arévalo-Ruano ML, Y.Canacuan-Melo F, Echeverry-Chica J, Salazar-González CL, Martínez-Delgado CM, Martínez-Pabón MC, Correa MM, Cienfuegos-Gallet AV. Molecular identification and genotyping of streptococcus mutans from saliva samples of children in medellin, Colombia. *Rev CES Odontol.* 2014; 27(2): 47-60.
 23. Krzyściak W Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of streptococcus mutans and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014; 33(4): 499-515. doi: 10.1007/s10096-013-1993-7
 24. Castro RJ, Herrera R, Giacaman RA. Salivary protein characteristics from saliva of carious lesion-free. *Acta Odontol Latinoam.* 2016; 29(2): 178-185.
 25. Subramenium GA, Vijayakumar K, Pandian SK. Limonene inhibits streptococcal biofilm formation by targeting surface-associated virulence factors. *J Med Microbiol.* 2015; 64(8): 879-890. doi: 10.1099/jmm.0.000105
 26. Marsh PD. Marsh and Martin's Oral Microbiology. 6th ed. Elsevier; 2016.
 27. Castro RJ, Herrera R, Giacaman RA. Salivary protein characteristics from saliva of carious lesion-free. *Acta Odontol Latinoam.* 2016; 29(2): 178-185.
 28. Anitha L. A Review on antimicrobial activity of vegetables, herbs and spices against cariogenic bacteria department of health sciences. *Clinical Nutrition.* 2016; 4(4): 12-20.

29. Nayaka MW, Sasadara MM, Sanjaya DA, Yuda SK, Dewi AA, Cahyaningsih E, Hartati R. Piper betle (L): recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules*. 2021; 26(8): 2321. doi: 10.3390/molecules26082321.
30. Ratna BR, Kasaudhan R. A Review on Tambula (Piper Betel Linn.) from ayur-vedic and modern perspective. *World J Pharm Res*. 2021; 10(5): 1652–1663.
31. Yee SL, Myo TT. Study on preliminary phyto-chemical screening, antibacterial and antioxidant activities of Piper betle L. (Betel vine). *J Myanmar Acad Arts Sci*. 2020; XVIII(1B).
32. Othman AB, Saad MZ, Haiha N, Yusof N, Abdullah SZ. In vitro antimicrobial activity of betel, Piper betle leaf extract against *Vibrio alginolyticus* isolated from Asian sea bass, *Lates calcarifer*. *J Appl Biol Biotechnol*. 2018; 6(04): 46–48.
33. Umar RA, Sanusi NA, Zahary NM, Rohin MAK, Ismail S. Chemical composition and the potential biological activities of Piper Betel. *Malaysian Journal of Applied Sciences*. 2018; 3(1): 1-8.
34. Islam MA, Ryu KY, Khan N, Song OY, Jeong JY, Son JH, Jamila N, Kim KS. Determination of the volatile compounds in five varieties of Piper betle L. from Bangladesh using simultaneous distillation extraction and gas chromatography/mass spectrometry (SDE-GC/MS). *Anal Lett*. 2020; 53(15): 2413–2430. doi: 10.1080/00032719.2020.1744160
35. Nguyen LTT, Nguyen TT, Nguyen HN, Bui QTP. Simultaneous determination of active compounds in Piper betle Linn. leaf extract and effect of extracting sol-vents on bioactivity. *Eng Reports*. 2020; 2(10): 2–9.