

Nanocrystalline Toothpaste Formulation of Usnic Acid and Antibacterial Activity Test Against Streptococcus Mutans

Formulasi Sediaan Pasta Gigi Nanokristal Asam Usnat Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Streptococcus Mutans

Henni Rosaini¹, Rina Wahyuni², Sapra Nadia³, Wahyu Margi Sidoretno⁴, Yan Hendrika⁵

^{1,2,3}Prodi S-1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Padang, Indonesia

⁴DIII Analis Farmasi dan Makanan, Universitas Abdurrab, Pekanbaru, Indonesia

⁵Prodi S-1 Farmasi, Universitas Abdurrab, Pekanbaru, Indonesia

Email Coresponden : wahyu.margi@univrab.ac.id

Article Info

Article history

Received date: 2023-05-23

Revised date: 2023-06-27

Accepted date: 2023-07-22



Abstract

Usnic acid is a secondary metabolic compound derived from the genus usnea which has antibacterial activity. This study aims to determine the formulation of usnic acid nanocrystalline toothpaste and its antibacterial activity. The formula was prepared in four concentrations, namely F0 (1% usnic acid nanocrystals without preservatives), F1 (preservative only), F2 (2% usnic acid nanocrystals), F3 (3% usnic acid nanocrystals) and F4 (4% usnic acid nanocrystals). All formulas were tested for physicochemical characteristics (organoleptic, homogeneity, pH, foam formation) and tested for antibacterial activity against Streptococcus mutans. The results of the physicochemical characteristics test showed that all formulas met the physicochemical quality requirements of toothpaste. Antibacterial activity test with well method produced inhibition diameters of F0 (12.87 mm), F1 (6.26 mm), F2 (13.79 mm), F3 (14.16 mm), F4 (14.47 mm) and Positive Control 22.26 mm. Statistical results using the One Way ANOVA method at the 95% level of confidence, followed by Duncan's test showed that there was a significant difference in the diameter of inhibition between each formula.

Keywords:

Toothpaste Formulation; Nanocrystal of Usnic acid; Antibacterial Activity Test

Abstrak

Asam usnat merupakan senyawa metabolik sekunder berasal dari genus usnea yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formulasi pasta gigi nanokristal asam usnat dan aktivitas antibakterinya. Formula dibuat dalam empat konsentrasi yaitu F0 (1% nanokristal asam usnat tanpa pengawet), F1 (hanya pengawet), F2 (2% nanokristal asam usnat), F3 (3% nanokristal asam usnat) dan F4 (4% nanokristal asam usnat). Semua formula dilakukan uji karakteristik fisikokimia (organoleptik, homogenitas, pH, pembentukan busa) dan uji aktivitas antibakteri terhadap Streptococcus mutans. Hasil pengujian karakteristik fisikokimia menunjukkan semua formula memenuhi syarat mutu fisikokimia pasta gigi. Uji aktivitas antibakteri dengan metoda sumuran menghasilkan diameter hambat sebesar F0 (12,87 mm), F1 (6,26 mm), F2 (13,79 mm), F3 (14,16 mm), F4(14,47 mm) dan Kontrol Positif 22,26 mm. Hasil statistik menggunakan metode One Way ANOVA pada taraf kepercayaan 95%, dilanjutkan dengan uji Duncan menunjukkan bahwa adanya perbedaan diameter hambat yang signifikan antara masing-masing formula.

Kata Kunci:

Formulasi pasta gigi; Nanokristal Asam Usnat; Uji Aktivitas Antibakteri

PENDAHULUAN

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, persentase penduduk yang mempunyai masalah gigi dan mulut meningkat dari 25,9% menjadi 57,6% [1]. Proporsi terbesar masalah gigi di Indonesia adalah gigi rusak/berlubang/sakit (45,3%) Sedangkan masalah kesehatan mulut yang mayoritas dialami penduduk Indonesia adalah gusi bengkak dan/atau keluar bisul (abses) sebesar 14% [2]. Masalah gigi dan mulut yang paling rentan diderita masyarakat luas adalah karies gigi. Bakteri yang paling umum menyebabkan kerusakan gigi adalah *Streptococcus mutans* kemudian diikuti dengan *Lactobacillus casein* dan *Streptococcus sanguis* [3]. Karies gigi merupakan salah satu penyakit gigi yang telah menyebar luas di sebagian besar penduduk dunia. Karies gigi artinya gigi berlubang dan ditandai oleh rusaknya lapisan email dan dentin yang terjadi secara progresif yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme dalam mulut atau bakteri dalam plak [4].

Asam usnat merupakan salah satu senyawa metabolik sekunder yang berasal dari Genus *usnea*. Asam usnat memiliki aktivitas antimikroba yang baik terhadap sejumlah planktonik bakteri gram positif seperti *Streptococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* dan beberapa jamur patogen [5]. Asam usnat sebagai zat murni telah diformulasikan dalam bentuk krim, pasta gigi, obat kumur, deodoran, produk tabir surya dan juga sebagai bahan pengawet [6].

Nanokristal adalah gabungan dari banyak molekul yang membentuk suatu kristal, merupakan senyawa obat murni dengan penyalutan tipis dengan menggunakan surfaktan. Nanokristal memungkinkan menjadi pengembangan formulasi melalui rute pemberian dimana ukuran partikel merupakan faktor kritis, seperti obat tetes mata, cairan infus, dan obat suntik [7]. Baru-baru ini, pasta gigi yang mengandung nanokristal hidroksiapatit berkarbonasi sedang dipelajari.

Pasta gigi ini memiliki aktivitas tinggi dimana mereka berikatan dengan enamel dan apatit dentin yang menghasilkan lapisan biomimetik pada enamel, dan kontras dengan pembentukan plak gigi dan mencegah kerusakan gigi [8].

Pasta gigi merupakan salah satu produk perawatan mulut yang digunakan pada kehidupan sehari-hari, dengan komposisi kimiawi yang berbeda-beda tergantung dari produksi pabrik. Pasta gigi dapat dikatakan sebagai suatu produk kosmetik ataupun obat tergantung fungsi dan kemampuan yang diberikan oleh pasta gigi tersebut [9]. Namun banyak masyarakat yang tidak tahu bahwa kebanyakan pasta gigi bermerek mengandung sejumlah bahan yang tidak sehat. Sedangkan pasta gigi herbal tidak mengandung pewarna, rasa atau fluorida buatan [10].

Berdasarkan latar belakang di atas, pada penelitian ini dilakukan formulasi nanokristal asam usnat sebagai zat aktif untuk pembuatan sediaan pasta gigi dan uji aktivitas antibakteri pasta gigi nanokristal asam usnat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental deskriptif. Pertama dilakukan pembuatan Nanokristal asam usnat. Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus mutan* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (UNAND) Padang. Formulasi pasta gigi nanokristal asam Usnat, dibuat dengan variasi konsentrasi F0 (1% nanokristal asam usnat tanpa pengawet), F1 (hanya pengawet), F2 (2% nanokristal asam usnat), F3 (3% nanokristal asam usnat) dan F4 (4% nanokristal asam usnat). Selanjutnya semua formula yang telah dibuat dilakukan evaluasi fisikokimia dilakukan pada hari ke-1, hari-7,

hari ke-14 dan hari ke-21 penyimpanan [11] dan pengujian mikrobiologi.

Uji Organoleptis

Dilakukan pengamatan visual terhadap bau, warna, dan bentuk yang diamati secara obyektif. Pengamatan ini bertujuan untuk melihat terjadinya perubahan secara signifikan pada sediaan yang telah dibuat.

Pemeriksaan Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara pasta gigi yang akan diuji dioleskan pada kaca objek untuk diamati homogenitasnya. Apabila tidak terdapat butiran-butiran diatas gelas objek tersebut, maka pasta gigi yang diuji dinyatakan homogen, sedangkan adanya butiran-butiran kasar menunjukkan bahwa pasta gigi tidak homogen.

Uji Pembentukan Busa

Uji pembentukan busa dilakukan dengan cara membuat larutan 1% dari berbagai konsentrasi pasta gigi nanokristal asam usnat dalam air. Kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur, lalu dikocok selama 1 menit. Kemudian mengukur tinggi busa yang terbentuk.

Pengukuran PH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan cara mencelupkan alat pH meter kedalam sediaan pasta gigi sampai menunjukkan angka yang konstan setelah beberapa saat. Nilai pH didapatkan dari angka tersebut.

Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Nanokristal Asam Urat

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi dengan cara sumuran. Prosedur yang dilakukan adalah menyiapkan media Nutrien Agar (NA) yang telah disterilkan dalam autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian dalam keadaan masih hangat nutrient agar dituangkan pada 6 cawan petri steril sebanyak 15 mL dikerjakan

di dalam LAF (*laminair flow*), lalu diamkan hingga padat. Menyiapkan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang telah diinokulasikan dalam NaCl, lalu mencelupkan kapas steril kedalam suspensi bakteri kemudian dioleskan pada medium NA. Membuat sumuran (lubang) pada medium nutrient agar menggunakan alat tipis diameter 7 mm, kemudian menyiapkan sampel pasta gigi sebanyak 0,1 gram pada variasi konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, kontrol negatif dan kontrol positif. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan pasta gigi dengan berbagai konsentrasi masing-masing sebanyak 0,1 gram ke dalam sumuran, kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengukuran dilakukan pada zona bening yang terbentuk disekeliling sumuran yang menunjukkan zona hambat pertumbuhan bakteri [11].

Analisis Data

Data kemudian dikumpulkan pada pengujian mutu fisik kimia dianalisis secara deskriptif dan data aktivitas antibakteri diolah secara statistik dengan metode *One Way ANOVA* pada taraf kepercayaan 95%. Dilanjutkkan dengan uji *Duncan* menggunakan program SPSS 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan organoleptis pasta gigi selama 21 hari penyimpanan dapat dilihat pada table 1. Bentuk pasta yang dihasilkan hampir sama namun peningkatan intensitas warna yang berbeda antara formula F0, F2, F3 dan F4 disebabkan oleh penambahan bahan aktif yaitu nanokristal asam usnat yang digunakan, pada F1 sediaan berwarna putih karena tidak ada penambahan zat aktif dan bentuk sediaan pada F1 agak kental ini dipengaruhi karena tidak adanya penambahan zat aktif. Demikian juga parameter bau, pasta gigi adalah khas nanokristal asam usnat, semakin besar konsentrasi nanokristal asam usnat yang digunakan maka baunya akan semakin khas.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptis Sediaan Pasta Gigi Nanokristal Asam Usnat.

Sampel	Bau	Warna	Bentuk
F0	Bau khas	Hijau muda	Kental
F1	Bau khas	Putih	Agak kental
F2	Bau khas	Hijau muda	Kental
F3	Bau khas	Hijau muda	Kental
F4	Bau khas	Hijau tua	Kental

Organoleptis merupakan salah satu kontrol kualitas untuk spesifikasi produk jadi sediaan semi padat seperti pasta gigi. Uji organoleptis merupakan pengujian subjektif dengan pengamatan bentuk, warna, dan bau. Sifat-sifat ini akan berhubungan dengan kenyamanan pengguna sediaan. Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki bau yang menyenangkan. Berdasarkan SNI 8861-2020, sediaan pasta gigi dikatakan baik jika memiliki tekstur lembut, homogen, tidak ada gelembung udara, gumpalan dan partikel yang terpisah [12]

Pemeriksaan homogenitas memperlihatkan hasil kelima formula (F0, F1, F2, F3 dan F4) memiliki homogenitas yang berbeda, dibuktikan dengan adanya granul-granul kasar pada kaca objek pada F1 akibat dari pengerusan yang tidak merata karena menggunakan lumpang sehingga pada F1 sediaan tidak homogen. Tetapi pada F0, F2, F3 dan F4 tidak terlihat adanya partikel-partikel kasar sehingga menghasilkan pasta gigi yang homogen. Hal ini menunjukkan bahwa semua bahan tambahan dan nanokristal asam usnat sebagai zat aktif yang digunakan dalam pembuatan pasta gigi tercampur secara merata. Pasta gigi nanokristal asam usnat memiliki sifat fisik yang baik dalam berbagai konsentrasi dengan homogenitas tetap baik selama 21 hari penyimpanan. Pengujian homogenitas bertujuan untuk menganalisa tingkat atau perubahan homogenitas pada sediaan pasta gigi yang mungkin terjadi karena beberapa faktor. Misalnya faktor penyimpanan selama berminggu-minggu dan

misalnya kurang halus mengayak butiran dan kurangnya pengadukan.

Pengukuran pH pasta gigi dilakukan selama 21 hari penyimpanan, nilai pH pasta gigi F0, F1, F2, F3 dan F4 masih masuk dalam persyaratan pH untuk pasta gigi yaitu berkisar antara 4,5-10,5 [13]. Pada pengujian pH pasta gigi nanokristal asam usnat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi nanokristal asam usnat pada pasta gigi maka semakin rendah pH pasta gigi nanokristal asam usnat dan kemungkinan juga disebabkan karena senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam nanokristal asam usnat dapat dilihat pada tabel berikut ini;

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan pH Sediaan Pasta Gigi Nanokristal Asam Usnat

Sampel	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
F0	5,52	5,58	5,55	5,61
F1	5,72	5,69	5,72	5,77
F2	5,50	5,49	5,48	5,49
F3	5,31	5,40	5,38	5,40
F4	5,25	5,36	5,29	5,27

Nilai pH pasta gigi nanokristal asam usnat selama penyimpanan 21 hari mengalami perubahan pH pada masing-masing formula, tetapi masih masuk dalam persyaratan pH pasta gigi berdasarkan SNI. Perubahan pH pada setiap formula disebabkan karena faktor lingkungan seperti perubahan suhu karena penyimpanan dilakukan pada suhu ruang, pengadukan formula yang tidak homogen, serta wadah penyimpanan yang kurang kedap sehingga memungkinkan udara masuk. Pengujian pH pasta gigi dilakukan untuk mengetahui apakah pasta gigi memenuhi persyaratan mutu fisik pasta gigi, stabil selama penyimpanan dan diharapkan tidak mengiritasi mukosa mulut. Pasta gigi dengan pH yang rendah dapat menyebabkan iritasi dan mempermudah pertumbuhan bakteri asidogenik yang hidup pada lingkungan asam seperti *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* pada pH 4,5-5,5. Selain itu, pH di bawah 5,5

berpotensi menyebabkan terjadinya demineralisasi gigi dan merusak email gigi sehingga menyebabkan karies gigi [14]. Pemeriksaan pembentukan busa pasta gigi selama 21 hari penyimpanan menunjukkan bahwa pasta gigi nanokristal asam usnat dapat menghasilkan busa saat digunakan. Tinggi pembentuk busa yang ditimbulkan pada F0, F1, F2, F3 dan F4 tidak terlalu jauh menunjukkan perbedaan disetiap minggu pengujian, dikarenakan kecepatan pengocokan yang tidak teratur sehingga menghasilkan busa yang tidak teratur juga pada setiap minggu pengujian. Tidak jauhnya perbedaan daya busa yang ditimbulkan kemungkinan disebabkan karena konsentrasi natrium lauryl sulfat yang digunakan sebagai surfaktan sama yaitu 1%. Banyak atau sedikit busa yang dihasilkan dipengaruhi oleh bentuk sediaan pasta gigi jika bentuk sediaan padat maka busa yang dihasilkan sedikit, sebaliknya jika bentuk sediaan lebih encer maka busa yang dihasilkan akan lebih banyak.

Tabel 3. Hasil Pembentukan busa sediaan Pasta Gigi Nanokristal Asam Usnat.

Sampel	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
F0	6,8	7,4	7,3	6,4
F1	6,0	7,5	7,5	6,6
F2	7,4	7,2	7,2	6,7
F3	6,0	6,8	7,3	6,0
F4	6,7	7,0	7,4	7,1

Pengujian pembentukan busa pasta gigi bertujuan untuk mengetahui apakah pasta gigi menghasilkan busa saat digunakan dan berapa tinggi busa yang dihasilkan oleh pasta gigi. Suatu sediaan pasta gigi dikatakan baik jika terbentuk busa. Pembentukan busa dapat dihubungkan dengan dengan terbentuknya suspensi dan kemampuan untuk membersihkan makanan atau kotoran gigi pada saat proses gosok gigi [15].

Pengujian antibakteri pasta gigi nanokristal asam usnat dilakukan untuk mengetahui daya hambat nanokristal asam usnat yang

diformulasikan dalam sediaan pasta gigi. Bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus mutans*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dengan cara sumuran. Metode Difusi sumuran adalah dengan membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang dimasukkan ekstrak yang diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang [16]. Pasta gigi F0 dengan konsentrasi nanokristal asam usnat 1% , F1 pasta gigi tanpat nanokristal asam usnat (kontrol negatif), F2 konsentrasi nanokristal asam usnat 2%, F3 konsentrasi nanokristal asam usnat 3% dan F4 konsentrasi nanokristal asam usnat 4% dan kontrol positif pasta gigi herbal dari PT. Unilever yang beredar di pasaran.

Tabel 4. Hasil Pembentukan busa sediaan Pasta Gigi Nanokristal Asam Usnat.

Sampel	Daya hambat (mm)
F0	12,87
F1	6,26
F2	13,79
F3	14,16
F4	14,47
Kontrol positif	22,26

Berdasarkan hasil data uji SPSS 22 didapatkan data yang normal karena nilai Sig-nya besar dari 0,05, setelah didapatkan data yang normal dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan nilai sig homogenitas 0,089 sehingga dapat dikatakan data yang kita peroleh homogen. Kemudian dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA dimana pada uji anova didapatkan nilai sig kecil dari 0,05 yang menyatakan bahwa tidak terjadinya perbedaan pada data yang diperoleh. Kemudian dilanjutkan pada uji Duncan, pengujian aktivitas antibakteri pasta gigi nanokristal asam usnat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* untuk pasta gigi dengan

konsentrasi nanokristal asam usnat 1% menghasilkan diameter daya hambat 12,87 mm, diameter daya hambat untuk pasta gigi dengan konsentrasi nanokristal asam usnat 2% adalah 13,79 mm, diameter daya hambat untuk pasta gigi dengan konsentrasi nanokristal asam usnat 3% adalah 14,16 mm dan diameter daya hambat pasta gigi dengan konsentrasi asam usnat 4% adalah 14,47 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi nanokristal asam usnat dalam pasta gigi maka diameter daya hambat antibakteri akan semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bahan uji, menunjukkan semakin besar jumlah zat aktif yang terkandung dalam pasta gigi, maka semakin besar pula kemampuan bahan uji dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Hasil diameter daya hambat untuk kontrol positif adalah 22,26 mm. Hasil diameter daya hambat pasta gigi nanokristal asam usnat pada semua formula pasta gigi nanokristal asam usnat masih belum sebanding dengan pasta gigi herbal yang beredar di pasaran (kontrol positif) dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*, tetapi semua formula pasta gigi nanokristal asam usnat telah menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri karena suatu bahan baru dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri bila diameter hambatan yang terbentuk adalah lebih dari atau sama dengan 6 mm [16, 17]. Senyawa asam usnat merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dan bersifat sebagai agen sitotoksik yang kuat [18].

Kontrol negatif pada pengujian antibakteri ini memberikan daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan diameter daya hambat adalah 6,26 mm, tetapi hasil yang diperoleh tidak sebanding dengan daya hambat pada setiap formula pasta gigi nanokristal asam usnat. Daya hambat yang diperoleh pada kontrol negatif disebabkan karena pasta gigi menggunakan natrium benzoat, nipagin dan nipasol sebagai pengawet [19,20]. Data diameter daya

hambat yang diperoleh merupakan selisih antara diameter daya hambat sediaan pasta gigi nanokristal asam usnat dengan sediaan pasta gigi tanpa nanokristal asam usnat (kontrol negatif).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa nanokristal asam usnat dapat diformulasi dalam bentuk sediaan pasta gigi. Aktivitas antibakteri pasta gigi nanokristal asam usnat dengan diameter hambat yaitu 12,87 mm, 6,26 mm, 13,79 mm, 14,16 mm, 14,47 mm dan 22,26 mm berturut-turut untuk F0, F1, F2, F3 dan F4.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, Ketua Yayasan Peguruan Tinggi Ilmu Kesehatan (YPTIK) Padang, LPPM Universitas Abdurrah yang telah memberikan izin penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, *Laporan Riset Kesehatan dasar 2018*, Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019.
- [2] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, *Situasi kesehatan gigi dan mulut 2019*, Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020.
- [3] Pratiwi, R., "Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal (The difference of inhibition zones toward *Streptococcus mutans* among several herbal toothpaste)", *Maj.Ked.Gigi (Dent. J.)*, vol. 38, no. 2, pp. 64-67
- [4] Kidd & Edwina A. M., *Dasar- Dasar Karies Penyakit Dan Penanggulangannya*, Jakarta: EGC, 1991.

- [5] Francolini, I., Norris, P., Poizzi, A., Donelli, G., & Stoodley, P. "Usnic Acid, a Natural Antimicrobial Agent Able to Inhibit Bacterial Biofilm Formation on Polymer Surface". *Antimicrobial agents and chemotherapy*, vol. 48, no. 11, pp. 4360-4365, 2004.
- [6] Ingoldsdottir, K. "Molecular of interest Usnic acid". *Phytochemistry*, vol. 61, no. 1, pp. 729-736, 2002.
- [7] Rawat, M., Singh, D & Saraf, S. "Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs". *Biology Pharmaceutical Bulletin*, vol. 29, no. 9, pp. 60-67, 2006.
- [8] Khetawat, S., & Lodha, S. "Nanotechnology (Nanohydroxyapatite Crystals): Recent Advancement in Treatment of Dentinal Hypersensitivity". *Journal of Interdisciplinary Medicine and Dental Science*, vol. 3, no. 3, pp.1-4, 2015.
- [9] Davies, R., Scully, C., & Preston, A. J. "Dentifrices - an update". *Biomaterials and Bioengineering in Dentistry*, vol. 15, no. 6, pp. 976–982, 2010.
- [10] Abhay, S., Dinimath, B.M. & Hullatti, K.K. "Formulation and Spectral Analysis of New Poly Herbal Toothpaste". *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, vol. 4, no. 6, pp. 68-74, 2014.
- [11] Sari, N. P. *Pengaruh Konsentrasi Poloxamer 188 Terhadap Karakteristik Fisikokimia Nanokristal Asam Usnat (Skripsi)*. Padang: STIFARM Padang. 2018.
- [12] Afni, N., Said, N., & Yuliet. "Uji aktivitas antibakteri pasta gigi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *GALENIKA" Journal of pharmacy*, vol. 1, no. 1, pp. 48-58, 2015.
- [13] Badan Standardisasi Nasional, "Standar Nasional Indonesia No. 8861 tentang Pasta gigi". Jakarta, Indonesia, 2020.
- [14] Tanabe, T., M., Takahashi, K., Shimoyama, Y., Toyoshima and Ueno, T. "Effects of Rehydration and Food Consumption on Salivary Flow, pH and Buffering Capacity in Young Adult Volunteers during Ergometer Exercise". *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. Vol. 10, no. 49, pp. 1-6, 2013.
- [15] Sidoretno, M., S. A.Y. Nasution. Analisis Fisikokimia Pasta Gigi yang Mengandung Kalsium berasal dari Tulang Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*), *Jurnal Farmasi Higea*, vol 12, no.2, 2020.
- [16] Badan Standardisasi Nasional, "Standar Nasional Indonesia No. 12-3524-1995 tentang Pasta gigi". Jakarta, Indonesia, 1995.
- [17] Retnaningsih, A., A. Primadimanti., I. Marisa, Uji daya hambat ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Sumuran, *Jurnal Analisis Farmasi*, vol. 4, no. 2, pp.122-129, 2019.
- [18] Sepahvand, A. E.S-Sroka, P. Ramak, V. Karimian., " Usnea sp: Antimicrobial potential, bioactive compounds, ethnopharmacological uses and other pharmacological properties; a review article". *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 268, 113656, 2021.
- [19] Maghfirah, F., Saputri, D., & Basri. "Aktivitas Pembentukan Biofilm *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans* Setelah Dipapar Dengan Cigarette Smoke Condensate dan Minuman Probiotik", *Journal Caninus Dentistry*, vol. 2, no. 1, pp. 12-19, 2017.
- [20] Manja, K, N., "Review On-Ingredients Used In Toothpaste Formulation", *Indian Journal of Medical reseach and Pharmaceutical Sciences*, vol 7, no. 9, pp. 9-15, 2020.