

## Efek paparan gas ozon terhadap mikroba saliva rongga mulut secara *in-vitro*

Gunawan Wibisono<sup>1\*</sup>, Rizky Merdietio Boedi<sup>1</sup>, Surya Nelis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Indonesia

\*Korespondensi: e-mail: [Gunawanwibisono\\_drg@Fk.undip.ac.id](mailto:Gunawanwibisono_drg@Fk.undip.ac.id)

Submisi: 21 Mei 2021; Penerimaan: 23 September 2021; Publikasi Online: 31 Oktober 2021

DOI: [10.24198/pjdrs.v5i2.33287](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v5i2.33287)

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Saliva merupakan salah satu sumber penyebaran infeksi selama perawatan gigi, yang menghasilkan bioaerosol. Prosedur aseptis perlu dilakukan untuk mengontrol bioaerosol sebagai upaya mengurangi risiko infeksi. Berbagai bahan aseptis telah digunakan, dengan kelebihan dan kekurangannya. Inovasi penggunaan bahan lain sangat diperlukan untuk mencapai kondisi aseptis secara efektif namun efisien. Salah satu ide inovatif adalah penggunaan gas ozon untuk berbagai prosedur aseptis di klinik gigi. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek paparan gas ozon terhadap mikroba saliva rongga mulut secara *in-vitro*. **Metode:** Penelitian dilakukan dengan sampel dari 60 ml air kumur 15 orang relawan, menggunakan aquades selama 60 detik, kemudian diencerkan dengan saline hingga volume mencapai 100 ml. Gas ozon total 384 gram dialirkan ke dalam larutan air kumur ini, selama 120 detik. Sejumlah 20 ml larutan sampel dituang merata dalam media *Plate count agar (PCA)* dan diinkubasi selama 24 jam, untuk kelompok sebelum diberi perlakuan gas ozon (Kelompok *Pre-test*) dan setelah perlakuan (Kelompok *Post-test*). Data penelitian berupa jumlah koloni mikroba (CFU) yang tumbuh pada media PCA. Data penelitian dianalisis dengan uji Wilcoxon. **Hasil:** Rerata jumlah koloni mikroba Kelompok *Pre-test*  $4,36 \pm 0,17$  dan kelompok *Post-test*  $2,40 \pm 0,3$  Hasil uji Wilcoxon menunjukkan Jumlah koloni mikroba mengalami penurunan signifikan ( $P < 0,05$ ). Paparan gas ozon selama 120 detik menurunkan jumlah mikroba rata-rata sebesar 55%. Beberapa mikroba lolos hidup, diduga karena adanya variabilitas biologis atau resistensi terhadap ozon. **Simpulan:** Gas ozon mempunyai efek menurunkan jumlah koloni mikroba saliva.

**Kata kunci:** ozon; antimikroba; aseptis

### *Effects of ozone gas exposure on oral saliva microbes in-vitro*

#### ABSTRACT

**Introduction:** Saliva is a source of infection spread during dental treatment, which produces bioaerosols. Aseptic procedures need to be carried out to control bioaerosols to reduce infection risk. Various widespread aseptic materials hold specific advantages and disadvantages. Therefore, innovation of other materials is needed to achieve aseptic conditions effectively and efficiently. One of the innovative ideas is the use of ozone gas for various aseptic procedures in dental clinics. This study was aimed to analyse the effect of ozone gas exposure on oral saliva microbes *in-vitro*. **Methods:** The study was conducted with a sample of 60 ml of mouthwash residue from 15 volunteers, which was distilled for 60 seconds, then diluted with saline until the volume reached 100 ml. A total of 384 grams of ozone gas flowed into this solution for 120 seconds. A total of 20 ml of sample solution was poured evenly in plate count agar (PCA) media and incubated for 24 hours for the group before being treated with ozone gas (*pre-test* group) and after treatment (*post-test* group). Research data was the number of microbial colonies (CFU) that grew on PCA media. Research data were analysed by the Wilcoxon test. **Results:** The mean number of microbial colonies in the *pre-test* group was  $4.36 \pm 0.17$  and the *post-test* group  $2.40 \pm 0.3$ . The Wilcoxon test results showed that the number of microbial colonies decreased significantly ( $p < 0.05$ ). Ozone gas exposure for 120 seconds reduced microbial counts by an average of 55%. However, some of the microbes survived, presumably due to biological variability or resistance to ozone. **Conclusions:** Ozone gas has the effect of reducing the number of salivary microbial colonies.

**Keywords:** ozone; antimicrobial; aseptic

## PENDAHULUAN

Risiko kejadian infeksi di klinik gigi menjadi agenda global yang penting. Rongga mulut dianggap menjadi salah satu sumber penularan infeksi. Cairan tubuh di rongga mulut mengandung mikroba, jamur dan virus, berpotensi menyebar ke operator, alat, ruangan dan pasien berikutnya. Penyebaran mikroba di rongga mulut terjadi melalui kontak langsung antara alat dengan cairan tubuh, atau dalam bentuk droplet dan bioaerosol. Tindakan medik gigi di klinik, menghasilkan bioaerosol yang mengandung mikroba sebanyak 246 hingga 321 CFU tiap jam.<sup>1,2</sup>

Strategi untuk mengurangi risiko penyebaran mikroba secara silang adalah penerapan prosedur aseptis, pada pasien, operator, alat dan ruangan klinik. Prosedur aseptis umum pada pasien berupa kumur dengan antiseptik sebelum pemeriksaan atau tindakan di rongga mulut. Berkumur dapat mengurangi populasi mikroba di rongga mulut, sehingga menurunkan risiko kontaminasi dan penyebaran infeksi. Prosedur aseptis untuk dan ruangan di lakukan dengan desinfeksi atau sterilisasi.<sup>3,4</sup>

Beberapa jenis desinfektan dan antiseptik lazim digunakan di klinik gigi untuk prosedur aseptis. Setiap bahan mempunyai kelebihan dan kelemahannya, sehingga perlu bahan yang berbeda untuk prosedur aseptis yang berbeda.<sup>5</sup> Hal ini mungkin akan berakibat pada efisiensi dan biaya pelayanan yang lebih tinggi. Pelayanan kesehatan gigi di klinik diharapkan menjadi lebih efisien berinovasi menggunakan gas ozon dalam prosedur aseptis. Gagasan ini berangkat dari fakta bahwa gas ozon mampu membunuh mikroba dan telah digunakan secara luas di bidang pangan dan medik, namun secara belum populer di Indonesia.<sup>6,7</sup>

Ozon adalah suatu molekul yang terdiri dari 3 atom oksigen dengan rumus kimia  $O_3$ . Ozon berupa gas tidak berwarna, beraroma khas seperti udara di sekitar danau atau seperti bau buah semangka. Ozon memiliki waktu paruh yang pendek yaitu 20-30 menit sebelum kembali menjadi oksigen. Molekul ozon memiliki sifat oksidan yang sangat kuat, bahkan enam kali lebih kuat dari pada klorin.<sup>8</sup> Gas ozon dalam bentuk terlarut dalam air (*ozone water*) dengan kadar 0.5-4 ppm efektif membunuh mikroba aerob maupun anaerob.<sup>9</sup> Ozon dalam bentuk gas sebesar 20 ppm yang diberikan selama 5 menit, mampu membunuh seluruh jenis mikroba patogen

yang meliputi *S. aureus*, *P. aurigenosa*, *E. faecalis*, dan *K. Pneumonia*.<sup>10</sup> Selain mikroba, ozon juga mampu membunuh virus, jamur dan beberapa jenis protozoa dengan cepat dan lebih kuat dibanding klorin ataupun klorin dioksida.<sup>5,11</sup> Ozon membunuh mikroba dalam waktu yang singkat dengan cara merusak dinding sel.<sup>12,13</sup> Ozon dengan konsentrasi 10 ppm efisien untuk membunuh virus dalam waktu 10 menit dalam ruangan kecil.<sup>14</sup>

Penggunaan ozon dalam prosedur aseptis di klinik gigi khususnya di Indonesia, belum banyak dilakukan, mengingat ketersediaan alat penghasil gas ozon. Pemerintah Indonesia menetapkan kebijakan untuk mengembangkan alat kesehatan secara mandiri, agar bebas dari ketergantungan barang impor. Universitas Diponegoro berinovasi dengan membuat generator ozon untuk keperluan pangan dan medik.<sup>15</sup> Saat ini belum ada laporan mengenai kemampuan anti mikroba generator ozon ini terhadap mikroba rongga mulut. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek paparan gas ozon terhadap mikroba dari saliva rongga mulut secara in-vitro.

## METODE

Penelitian ini dilakukan secara in vitro, dengan rancangan pre-and post-test tanpa kelompok kontrol. Sampel penelitian yang digunakan untuk uji adalah air kumur dari rongga mulut menggunakan aquades. Jumlah minimal sampel berdasar rumus Federer untuk 2 kelompok adalah 15 orang. Populasi terjangkau dalam penelitian ini adalah mahasiswa prodi Kedokteran gigi Undip dengan status aktif. Sampel penelitian dipilih secara random, memenuhi kriteria dan dipilih secara acak sederhana. Sampel memenuhi kriteria inklusi : wanita, umur 19-20 tahun, tidak sedang dalam pengobatan antibiotika dan memiliki skor OHI baik. Perlakuan pemberian ozon dilakukan secara insulasi ke dalam air kumur, dengan dosis 3,2 ppm/detik sesuai kapasitas generator ozon. Durasi paparan ozon adalah 120 detik, mengacu pada penelitian Reddy et al.<sup>16</sup>

Alat yang digunakan adalah mesin pembangkit ozon (M-Zon, Universitas Diponegoro), *laminar air flow*, inkubator, autoklaf, *colony counter*, *hot plate*, bunsen, botol sampel, tabung erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, tip, gelas ukur, gelas beker, batang pengaduk, dan timbangan digital. Bahan yang digunakan adalah sampel air

kumur rongga mulut, aquades, media *Plate Count Agar* (PCA) dan *saline solution*. Sampel penelitian berupa air kumur dari tiap relawan, sebanyak 60 ml dihomogenkan dengan penambahan 40 ml *saline*, sebagai kelompok *Pre-test* (N=15). Sampel yang sama disiapkan untuk dipapar dengan gas ozon, sebagai kelompok *Post test* (N=15). Anggota dari setiap kelompok, diambil sejumlah 20 ml larutan dituang merata ke dalam media *Plate Count Agar* (PCA), untuk diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Penentuan jumlah total mikroba atau TPC/ALT dilakukan berdasarkan Standar Nasional Indonesia nomor 01-2332.3:2015. Data penelitian dianalisis normalitas sebarannya, dilanjutkan dengan uji t berpasangan jika sebaran data normal. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian FK Undip, nomor 108/EC/H/FK-Undip/XI/2020.

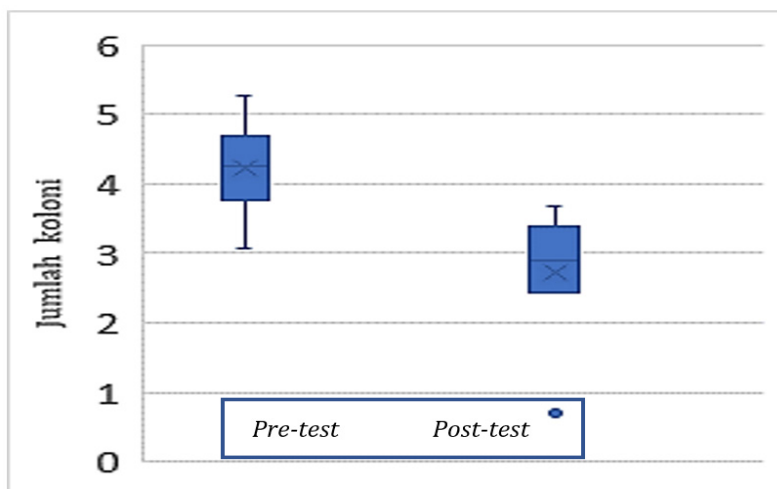
**HASIL**

Hasil pengujian daya bunuh gas ozon terhadap mikroba saliva diperoleh data berupa jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada media. Seluruh data kuantifikasi mikroba ditampilkan pada transformasi log.<sup>10</sup> Rerata kuantifikasi mikroba pada kelompok *Pre-test* sejumlah 4,361 ± 0,175 dan kelompok *Post-test* sejumlah 2,405 ± 0,304 tersaji pada Tabel 1 dan gambar 1.

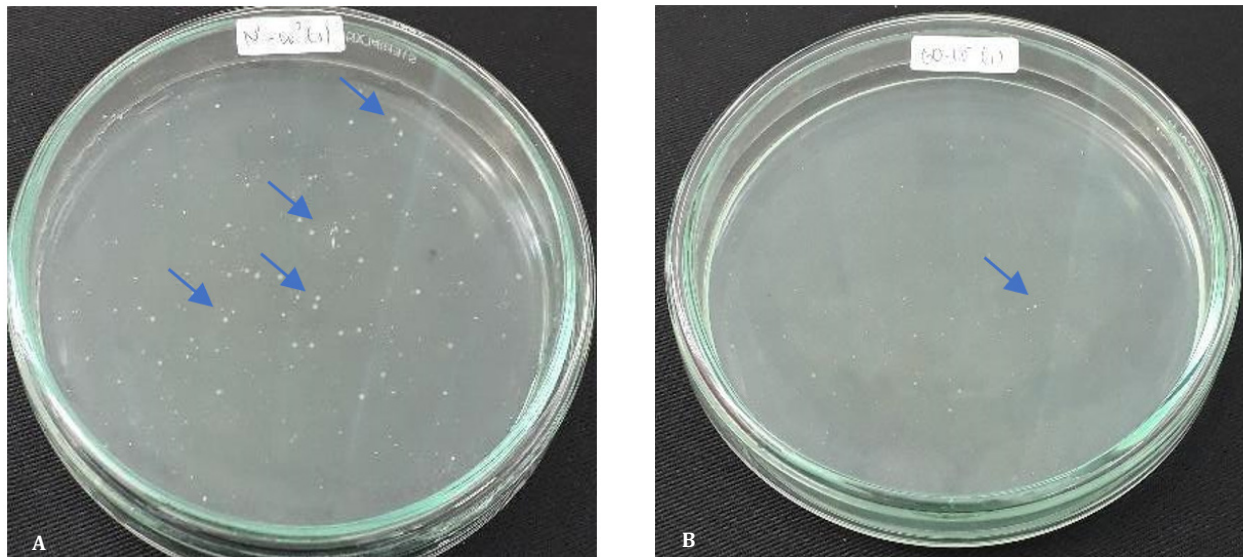
Gambaran pertumbuhan koloni mikroba kelompok *Pre* dan *Post-test* yang dilakukan dengan kultur mikroba disajikan pada gambar 2. Hasil uji normalitas sebaran data pada kelompok *Pre-test* normal (P>0,05), sebaliknya kelompok *post-test* tidak normal (P<0,05), selanjutnya dianalisis dengan uji Wilcoxon. Hasil uji Wilcoxon menunjukkan adanya perbedaan signifikan diantara kelompok *Pre* dan *Post-test* (P<0,05) tersaji pada Tabel 2.

Tabel 1. Jumlah koloni mikroba kelompok *Pre* dan *Post-test*

Sampel	Jumlah koloni mikroba	
	<i>Pre-test</i>	<i>Post-test</i>
1	3,20 x 10 <sup>4</sup>	2,80 x 10 <sup>2</sup>
2	1,86 x 10 <sup>4</sup>	4,75 x 10 <sup>3</sup>
3	2,01 x 10 <sup>4</sup>	5,30 x 10 <sup>2</sup>
4	1,75 x 10 <sup>4</sup>	2,48 x 10 <sup>3</sup>
5	4,80 x 10 <sup>4</sup>	7,90 x 10 <sup>2</sup>
6	5,75 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10 <sup>2</sup>
7	1,83 x 10 <sup>4</sup>	1,61 x 10 <sup>3</sup>
8	3,63 x 10 <sup>4</sup>	2,62 x 10 <sup>3</sup>
9	1,45 x 10 <sup>5</sup>	5,11 x 10 <sup>3</sup>
10	4,85 x 10 <sup>4</sup>	1,62 x 10 <sup>3</sup>
11	3,35 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10 <sup>2</sup>
12	6,50 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10 <sup>2</sup>
13	1,15 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10 <sup>2</sup>
14	1,67 x 10 <sup>4</sup>	< 1 x 10 <sup>2</sup>
15	2,05 x 10 <sup>3</sup>	< 1 x 10 <sup>2</sup>



Gambar 1. Grafik rerata jumlah koloni (dalam log<sup>10</sup>)



Gambar 1. Hasil uji kultur mikroba kelompok Pre-test (a) dan Post-test (b) sampel nomer 13. (Sumber Foto: Dokumentasi Pribadi)

Mikroba dari hasil uji kultur mikroba, pada gambar (a) nampak terlihat masih adanya pertumbuhan koloni mikroba cukup banyak. Mikroba pada gambar

(b) memperlihatkan juga masih nampak adanya pertumbuhan koloni mikroba dalam jumlah sangat sedikit.

Tabel 2. Hasil uji statistik deskriptif, asumsi data dan beda rerata

Perlakuan	N	Rerata (log <sup>10</sup> )	SB	Uji normalitas sebaran data (Kolmogorov-Smirnov)	Uji Wilcoxon*
Sebelum ozonisasi (Pre-test)	15	4,36	0,17	0,20	
Sesudah ozonisasi (Post-test)	15	2,40	0,30	0,02**	-3,29 (P< 0,05)

\*Uji Wilcoxon untuk data dengan sebaran tidak normal\*\*

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan, pertumbuhan koloni mikroba cukup merata pada kelompok kontrol, dan sangat sedikit pada kelompok paparan ozon. Jumlah koloni mikroba dari air kumur secara statistik berbeda sangat nyata (P<0,05). Secara statistik selisih rerata jumlah koloni mikroba sebelum dan sesudah perlakuan terjadi penurunan sebesar 55%. Di dalam penelitian ini tidak diketahui jenis mikroba dari saliva yang terbunuh, karena tidak dilakukan identifikasi.

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya dengan sampel mikroba *S. mutan* dan *C. albican*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. atraphaeus*, dan *E. Faecalis*. Penggunaan ozon dalam air (*ozonized water*) sebesar 0,1 ppm selama 30 detik untuk kumur, menurunkan jumlah koloni *S. mutan* dan *C. albican* dalam plak sebesar 45% (P<0,05).<sup>17</sup> Penggunaan 10

ppm *ozonized water*, untuk desinfeksi alat selama 10 menit, mampu menurunkan jumlah koloni *E.coli*, *S. aureus* dan *B. atraphaeus*, sebesar 90,15%.<sup>18</sup> Penggunaan *ozonized water* sebesar 25 ppm selama 4 menit, untuk irigasi saluran akar yang dikontaminasi dengan *E. faecalis*, menunjukkan penurunan jumlah koloni mikroba yang signifikan.<sup>19</sup>

Ozon diketahui menyebabkan kematian mikroba dengan beberapa rangkaian. Sifat ozon sebagai oksigen radikal bebas (*ROS*), menyebabkan oksidasi dinding sel diikuti *rupture*. Ozon akan penetrasi ke dalam plasma sel, merusak osmolalitas dan senyawa organik di dalamnya. Dengan rusaknya komponen dan struktur senyawa biokimia, menyebabkan metabolisme sel rusak dan berakhir dengan kematian sel secara cepat.<sup>20,21</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan penurunan jumlah koloni yang signifikan, dengan dosis ozon 3,2 ppm/detik, diberikan selama 120 detik, hingga total dosis

adalah 384 ppm. Daya bunuh lebih cepat dibanding penelitian sebelumnya selama 10 menit dengan dosis 10 ppm<sup>18</sup> atau 20 menit dengan dosis 25 ppm.<sup>19</sup> Perbedaan ini mungkin berkaitan dengan perbedaan dosis ozon yang dihasilkan mesin, jauh lebih besar sehingga daya bunuh ozon berlangsung dalam waktu sangat cepat.

Paparan ozon dalam penelitian ini dilakukan secara insuflasi, dengan mengalirkan gas ozon langsung ke dalam larutan sampel. Penelitian Cesar *et. al.*<sup>18</sup> dan Goztas *et. al.*<sup>19</sup> menggunakan *ozonized water*. Daya bunuh *ozonized water* diduga menjadi makin lemah karena ozon dalam air diketahui akan mengalami disosiasi dan kembali menjadi oksigen dalam waktu 30 menit. Perbedaan konsentrasi ozon dalam larutan sampel, menghasilkan daya bunuh yang berbeda pula.

Temuan lain dari penelitian ini adalah bahwa paparan ozon dengan dosis total 384 ppm, gas ozon menurunkan jumlah koloni mikroba saliva. Walaupun beberapa kelompok sampel post-test menunjukkan jumlah koloni  $< 1 \times 10^1$ , namun ada kelompok sampel dengan jumlah koloni mikroba sebesar  $> 1 \times 10^2$ .

Hal ini menunjukkan bahwa masih ada koloni mikroba yang lolos hidup (*viable*) walau mendapat paparan ozon. Dapat diduga ada faktor yang mempengaruhi viabilitas mikroba yaitu kepadatan mikroba dalam suspensi, jenis dan komposisi mikroba dalam saliva. Faktor lain yang diduga berpengaruh terhadap viabilitas mikroba adalah variabilitas biologis yang berupa faktor lingkungan lokal, makanan, imunitas, dan hormonal dari inang.<sup>20,21</sup>

Faktor internal mikroba yang mempengaruhi viabilitas mikroba adalah permeabilitas dinding sel. Permeabilitas mempengaruhi kemampuan ozon untuk penetrasi ke dalam sitoplasma, sehingga resistan terhadap paparan ozon.<sup>22,23</sup> Beberapa spesies *P. aurigenosa* diketahui mempunyai kemampuan resistansi terhadap efek ozon, sehingga tetap tumbuh dalam media.<sup>24</sup> Mikroba *P. aurigenosa* diketahui lebih resisten terhadap ozon, dibandingkan dengan *E. coli* maupun *A. faecalis*.<sup>25,26</sup>

Struktur membrane dinding sel juga mempengaruhi resistensi mikroba terhadap ozon. Mikroba gram negatif mempunyai struktur membrane yang tersusun oleh peptidoglikan yang tipis, sehingga lebih mudah rusak oleh ozon.<sup>20</sup> Mikroba jamur mempunyai struktur polisakarida, lipid dan protein rantai panjang, lebih resisten

terhadap efek oksidasi dari ozon.<sup>13,27</sup> Resistensi mikroba terhadap ozon diduga juga berhubungan dengan umur koloni.

Ketahanan terhadap paparan ozon terlihat lebih tinggi pada koloni mikroba dengan umur lebih tua. Mikroba dengan umur koloni lebih tua diduga lebih lama mengalami fase stasioner lebih lama dalam siklus hidupnya. Umur koloni diduga juga mempengaruhi ekspresi gen yang bertanggungjawab terhadap resistensi terhadap faktor jejas dari luar.<sup>26,27</sup>

Kelemahan pada penelitian ini adalah terbatasnya variasi dari dosis dan waktu paparan. Identifikasi mikroba saliva juga tidak dilakukan, sehingga berpeluang meningkatnya bias akibat kontaminasi mikroba luar saliva. Penelitian ini juga belum dapat menyajikan informasi efek paparan ozon terhadap mikroba lain seperti jamur dan virus.

## SIMPULAN

Gas ozon mempunyai efek menurunkan jumlah koloni mikroba saliva

## DAFTAR PUSTAKA

1. Gallagher JE, K CS, Johnson IG, Al-Yaseen W, Jones R, McGregor S, et al. A systematic review of contamination (aerosol, splatter and droplet generation) associated with oral surgery and its relevance to COVID-19. *BDJ Open*. 2020;6(1):25-32. DOI: [10.1038/s41405-020-00053-2](https://doi.org/10.1038/s41405-020-00053-2)
2. Polednik B. Exposure of staff to aerosols and bioaerosols in a dental office. *Build and Envir*. 2021; 187: 1-13. DOI: [10.1016/j.buildenv.2020.107388](https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2020.107388)
3. Amtha R, Gunardi I, Dewanto I, Widyarman AS, Theodorea CF. Panduan dokter gigi dalam era new normal. Monograph Press. 2020; 1(1): 49-58. DOI: [10.32793/monograph.v1i1.601](https://doi.org/10.32793/monograph.v1i1.601)
4. Britton HC, Draper M, Talmadge JE. Antimicrobial efficacy of aqueous ozone in combination with short chain fatty acid buffers. *Infect Prev in Pract*. 2020; 2(1):1-7. DOI: [10.1016/j.infpip.2019.100032](https://doi.org/10.1016/j.infpip.2019.100032)
5. Fitria S, Sidik MAB, Buntat Z, Nawawi Z, Jambak MI, Kamarudin NN, et al. Efficacy of dissolved ozone against *S.aureus* and *B.cereus*. *J Ecol Eng*. 2019; 20(11): 76-81. DOI: [10.12911/22998993/113037](https://doi.org/10.12911/22998993/113037)
6. Prayitno, Saroso H, Hardjono, Rulianah S. The

- Effect of contact time and ozon dose to pollutants reduction in hospital wastewater. *JBAT*. 2018; 7(1): 41-47. DOI: [10.15294/jbat.v7i1.11401](https://doi.org/10.15294/jbat.v7i1.11401)
7. Megahed A, Aldridge B, Lowe J (2018) The microbial killing capacity of aqueous and gaseous ozone on different surfaces contaminated with dairy cattle manure. *PLoS ONE* 13(5): e0196555. DOI: [10.1371/journal.pone.0196555](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196555)
  8. Mohan M, Jagannathan N. The efficacy of pre-procedural mouth rinse on bacterial count in dental aerosol following oral prophylaxis. *Dent and Med Prob*. 2016; 53(1): 78-82. DOI: [10.3389/fmed.2021.600769](https://doi.org/10.3389/fmed.2021.600769)
  9. Fontes B, Heimbecker AMC, de Souza Brito G, Costa SF, van der Heijden IM, Levin AS, et al. Effect of low-dose gaseous ozone on pathogenic microbes. *BMC Infect Dis*. 2012; 12(1): 358-369. DOI: [10.4081/ijfs.2014.1680](https://doi.org/10.4081/ijfs.2014.1680)
  10. Ximenes M, Cardoso M, Astorga F, Arnold R, Pimenta A, Viera RS. Antimicrobial activity of ozone and NaF-chlorhexidine on early childhood caries. *Braz Oral Res*. 2017; 31(13):1-10. DOI: [10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0002](https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0002)
  11. Grignani E, Mansi A, Cabella R, Castellano P, Tirabasso A, Sisto R, et al. Safe and effective use of ozone as air and surface disinfectant in the conjuncture of Covid-19. *Gases*. 2021; 1(1): 19-32. DOI: [10.3390/gases1010002](https://doi.org/10.3390/gases1010002)
  12. Ouf SA, Moussa TA, Abd-Elmegeed AM, Eltahlawy SR. Anti-fungal potential of ozone against some dermatophytes. *Braz. J. Microbiol*. 2016; (47): 697-702. DOI: [10.1016/j.bjm.2016.04.014](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.014)
  13. Blanco A, Ojembarrena FB, Clavo B, Negro C. Ozone potential to fight against SAR-COV-2 pandemic: facts and research needs. *Envir Sci Pollut Res Int*. 2021; 28(13): 16517-31. DOI: [10.1007/s11356-020-12036-9](https://doi.org/10.1007/s11356-020-12036-9)
  14. Teke S, Nur M, Winarni TA. Analisis produksi ozon dalam reaktor dielectric barrier discharge plasma (dbdp) terkait panjang reaktor dan laju alir udara serta pemanfaatannya untuk menjaga kualitas asam amino ikan. *Berkala Fisika*. 2014; 17(1): 25-32.
  15. Reddy S, Reddy N, Dinapadu S, Reddy M, Pasari S. Role of ozone therapy in minimal intervention dentistry and endodontics-a review. *J Int oral health: JIOH*. 2013; 5(3): 102.
  16. Sadatullah S, Mohamed NH, Razak FA. The antimicrobial effect of 0.1 ppm ozonated water on 24-hour plaque microorganisms in situ. *Braz Oral Res*. 2012; 26(2): 126-31. DOI: [10.1590/s1806-83242012000200007](https://doi.org/10.1590/s1806-83242012000200007)
  17. Cesar J, Sumita TC, Junqueira JC, Jorge AO, do Rego MA. Antimicrobial effects of ozonated water on the sanitization of dental instruments contaminated with *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, or the spores of *B. atrophaeus*. *J Inf Pubc Health*. 2012; 5(4): 269-74. DOI: [10.1016/j.jiph.2011.12.007](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2011.12.007)
  18. Goztas Z, Onat H, Tosun G, Sener Y, Hadimli HH. Antimicrobial effect of ozonated water, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in primary molar root canals. *Eur J Dent*. 2014; 8(4): 469-74. DOI: [10.4103/1305-7456.143627](https://doi.org/10.4103/1305-7456.143627)
  19. Guilani G, Ricevuti G, Galoforo A, Franzini M. Microbial aspects of ozone : bactericidal activity and antibiotic/antimicrobial resistance in bacterial strains treated with ozone. *Ozone Therapy*. 2018; 3(3): 48-51. DOI: [10.4081/ozone.2018.7971](https://doi.org/10.4081/ozone.2018.7971)
  20. Santos LMC, Silva ES, Oliveira FO, Rodrigues LAP, Neves PRF, Meira CS, Moreira GAF, et al. Ozonized water in microbial control: analysis of the stability, in vitro biocidal potential, and cytotoxicity. *Biology*. 2021; 10(6): 525-34. DOI: [10.3390/biology10060525](https://doi.org/10.3390/biology10060525)
  21. Feng L, Zhang K, Gao M, Shi C, Ge C, Qu D, et al. Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* by aqueous ozone. *J Microb Biotech*. 2018; 28(8): 1233-46. DOI: [10.4014/jmb.1801.01056](https://doi.org/10.4014/jmb.1801.01056)
  22. Baroudi K, Dagli R, Dagli N, Darwish S. Oral microbial shift: factors affecting the microbiome and prevention of oral disease. *The J of Contemp Dent Pract*. 2016;17:90-6. DOI: [10.5005/jp-journals-10024-1808](https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1808)
  23. Prabakaran M, Tamil Selvi S, Merinal S, Panneerselvam A. Effect of ozonation on pathogenic microbes. *Adv in Appl Sci Res*. 2012; 3(1): 299-30.
  24. Rudolphi-Skórska E, Filek M, Zembala M. The effects of the structure and composition of the hydrophobic parts of phosphatidylcholine-containing systems on phosphatidylcholine oxidation by ozone. *The J of Membr Biol*. 2017; 250(5): 493-505. DOI: [10.1007/s00232-017-9976-8](https://doi.org/10.1007/s00232-017-9976-8)
  25. Bialoszewski D, Pietruczuk-Padzik A, Kalicinska A, Bocian E, Czajkowska M, Bukowska B, et al. Activity of ozonated water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas*

- aeruginosabiofilms. *Med Sci Monit.* 2011; 17(11): 339-44. DOI: [10.3390/molecules25163601](https://doi.org/10.3390/molecules25163601)
26. Ferdes M, Zabava BS, Dinca MN, Paraschiv G. Effect of ozone treatment on three microbial strains of drinking water. Proceedings 17<sup>th</sup> International Scientific Conference "Engineering for Rural Development", 2018 23-25 May, Jelgava, Latvia. Latvia University of Life Sciences and Technologies; 2018.
27. Wani S, Maker JK, Thompson JR, Barnes J, Singleton I. Effect of ozone treatment on inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria sp.* on spinach. *Agricult.* 2015; 5(2) :155-69. DOI: [10.3390/agriculture5020155](https://doi.org/10.3390/agriculture5020155)