



RESEARCH ARTICLE

## EFEKTIVITAS PENAMBAHAN ANTIBAKTERI NANO KITOSAN SISIK IKAN NILA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) DARI TAMBAK DANAU BATUR PADA SODIUM HIPOKLORIT 2,5% DAN 3,5% TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SEBAGAI BAHAN IRIGASI SALURAN AKAR

Dewa Made Wedagama<sup>1</sup>, Ilma Yudistian<sup>2</sup>, A.A. Istri Risma Oktiari<sup>3</sup>

Departemen Konservasi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahasaraswati Denpasar

A.A. Istri Risma Oktiari, Email: Rismaoktr2000@gmail.com

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Sodium hipoklorit merupakan bahan irigasi yang paling umum digunakan untuk perawatan saluran akar. Namun pada sodium hipoklorit masih dijumpai kelemahan, yakni bersifat toksik terhadap jaringan periapikal. Sehingga pada penelitian ini memanfaatkan antibakteri alternatif yang bersifat non toksik yaitu larutan nano kitosan sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*). **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas larutan nano kitosan sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) 0,5% ditambah sodium hipoklorit 2,5% dan 3,5% sebagai bahan irigasi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metodologi:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *Post-test Only Control Group Design* dengan uji antibakteri *Kirby Baurer* pada larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 2,5% dan 3,5% dengan kontrol positif yakni sodium hipoklorit 2,5% dan kontrol negatif yaitu larutan nano kitosan sisik ikan nila ditambah *aquadest*. **Hasil penelitian:** Hasil penelitian menunjukkan uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk* berdistribusi normal karena diperoleh nilai  $p > 0,05$  untuk semua perlakuan dan uji homogenitas dengan *Levene's test* bernilai homogen maka selanjutnya dilakukan uji statistik parametric dengan uji *One Way Anova* diperoleh nilai signifikansi adalah 0,000 yang artinya lebih kecil dari 0,05 sehingga rata – rata keempat kelompok tersebut berbeda secara signifikan. Daya hambat rerata nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 2,5% sebesar 23,83 mm dan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 3,5% sebesar 27,5 mm. **Kesimpulan:** Dapat disimpulkan bahwa efektivitas yang lebih tinggi terdapat pada larutan nano kitosan 0,5% ditambah sodium hipoklorit 3,5%.

**Kata kunci:** Nano kitosan sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*), Sodium hipoklorit 2,5% dan 3,5%, *Staphylococcus aureus*, zona hambat



## ABSTRACT

**Introduction:** Sodium hypochlorite is commonly used as root canal treatment. However, it is toxic to periapical tissues. This study utilized an alternative antibacterial, called tilapia (*Oreochromis niloticus*) based nano chitosan. **Objectives:** The purpose of this study was to determine the effectiveness of tilapia (*Oreochromis niloticus*) based nano chitosan 0.5% plus sodium hypochlorite 2.5% and 3.5% as an irrigant to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. **Materials and methods:** This research is a laboratory experimental study with a Post-test Only Control Group Design used antibacterial test Kirby Baurer in 0.5% tilapia based nano chitosan solution plus sodium hypochlorite 2.5% and 3.5% with positive control (sodium hypochlorite 2.5%) and negative control (tilapia based nano chitosan solution plus aquadest). **Result and Discussion:** The results showed that the normality test with Shapiro-Wilk was normally distributed because it obtained a  $p > 0.05$  and the homogeneity test with Levene's test was homogeneous, then parametric statistical tests were carried out with the One Way Anova obtained a significance value of  $p < 0.05$  so that the average of the four groups are significantly different. The average inhibition rate of 0.5% tilapia based nano chitosan plus sodium hypochlorite 2.5% was 23.83 mm and 0.5% tilapia based nano chitosan plus sodium hypochlorite 3.5% was 27.5 mm. **Conclusion:** It can be concluded that 0.5% tilapia based nano chitosan solution plus sodium hypochlorite 2.5% and 3.5% has a very strong inhibition against *Staphylococcus aureus*, but 0.5% tilapia based nano chitosan plus sodium hypochlorite 3.5% has a higher effectiveness.

**Keywords:** Tilapia (*Oreochromis niloticus*) based nano chitosan, Sodium hypochlorite 2.5% and 3.5%, *Staphylococcus aureus*, inhibition zone



## PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan salah satu bagian penting untuk menunjang kesehatan dan penampilan seseorang. Salah satu perawatan dalam kedokteran gigi yang dapat mempertahankan gigi selama mungkin dalam rongga mulut salah satunya adalah perawatan saluran akar gigi.<sup>1</sup>

Perawatan saluran akar adalah proses memasukan suatu bahan pengisi ke dalam ruangan yang sebelumnya terdapat jaringan pulpa, guna mencegah terjadinya infeksi ulang.<sup>2</sup> Terdapat tiga tahap utama pada perawatan endodontik atau biasa disebut sebagai Triad Endodontik, yang terdiri dari preparasi biomekanis, sterilisasi dan pengisian saluran akar yang hermentis.<sup>3</sup>

Perawatan saluran akar memiliki hubungan dengan bahan irigasi yang akan digunakan untuk mendapatkan saluran gigi yang steril. Bahan irigasi merupakan cairan medikasi yang berfungsi membunuh mikroorganisme pada kavitas serta saluran akar gigi.<sup>4</sup> Pada umumnya, cairan irigasi yang digunakan pada perawatan saluran akar dan menjadi salah satu gold standard adalah larutan sodium hipoklorit dengan konsentrasi 0,5% - 5,25% namun bersifat toksik, salah satu bahan irigasi yang dikembangkan saat ini yang terbukti non toksik bagi tubuh serta dapat meningkatkan efektifitas penggunaan bahan irigasi sodium hipoklorit adalah kitosan.<sup>5</sup>

Kitosan dapat berfungsi sebagai modulator radang, membantu proses perawatan saluran akar gigi, serta dapat membantu proses pertumbuhan periodontal dikarenakan sifatnya yang biokompatibel, biodegradasi, bioadhesi, memiliki fungsi sebagai anti mikroba serta tidak toksik terhadap tubuh manusia.<sup>6</sup> Nanokitosan dengan konsentrasi 0,5% dikatakan memiliki daya hambat yang kuat sebagai bahan antibakteri jika



dibandingkan dengan konsentrasi 2%. Hal ini disebabkan oleh kandungan nanokitosan yang dimiliki oleh konsentrasi 2% lebih kental dari konsentrasi 0,5% yang nantinya akan mempengaruhi proses difusi konsentrasi 0,5% menjadi lebih baik dari konsentrasi 2%, sehingga kemampuan menekan pertumbuhan bakteri uji pun ikut terpengaruh.<sup>7</sup>

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan di atas, diangkat penelitian ini dengan judul "Efektivitas Penambahan Antibakteri Nanokitosan Sisik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dari Tambak Danau Batur Pada Sodium Hipoklorit 2,5% dan 3,5% Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar" yang bertujuan untuk menguji efektivitas sodium hipoklorit yang diberi tambahan nano kitosan yang diekstrak dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

## **BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post-test Only Control Group Design*. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Proses pembuatan kitosan dan larutan nano kitosan dari sisik ikan nila dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Dasar Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Sisik Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang digunakan pada penelitian ini didapatkan langsung dari tambak Danau Batur. Sisik ikan yang sebelumnya yang dicuci dan dikeringkan kemudian dilakukan proses deproteinasi yaitu pembuatan larutan NaOH 1 M, lalu memasukkan sisik ikan dan larutan NaOH 1M dengan perbandingan 1:6 (b/v) yakni sebanyak 1gr sisik ikan dan 6 ml larutan NaOH ke dalam *beaker glass*. Panaskan



pada suhu 70-80°C dan aduk dengan *magnetic stirrer* selama 2 jam, diamkan campuran sampai terbentuk 2 lapisan lalu pisahkan dengan kertas saring. Cuci hasil penyaringan berupa residu dengan *aquadest* sampai pH netral. Keringkan residu dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Kemudian proses demineralisasi, timbang hasil oven deproteinasi lalu buat larutan HCl 1,5 N. Masukkan hasil oven Deproteinasi dan larutan HCl 1,5 M dengan perbandingan 1:4 (b/v) ke dalam *beaker glass*. Panaskan pada suhu 70-80°C dan mengaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Diamkan campuran sampai terbentuk 2 lapisan. Pisahkan 2 lapisan dengan menggunakan kertas saring. Cuci hasil penyaringan berupa residu dengan *aquadest* sampai pH netral dan keringkan residu dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Proses terakhir adalah deasetilasi timbang kitin hasil demineralisasi lalu membuat larutan NaOH 1,15 M. Masukkan kitin dan larutan NaOH 1,15M dengan perbandingan 1:10 (b/v) ke dalam *beaker glass*. Panaskan pada suhu 70-80°C dan mengaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 90,120, dan 150 menit. Diamkan campuran sampai terbentuk 2 lapisan. Pisahkan 2 lapisan dengan menggunakan kertas saring. Cuci hasil penyaringan berupa residu dengan *aquadest* sampai pH netral lalu keringkan residu dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam.

Bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang di tanam secara merata pada media kultur agar *Mueller Hinton*. Teknik penanaman yang dilakukan yaitu dengan mengoleskan bakteri menggunakan swab kapas steril kemudian didiamkan 10 menit pada suhu ruang. Proses suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* hasil biakan selama 24 jam diambil menggunakan ose steril dan dimasukkan kedalam larutan NaCl 0,9%, kemudian



dihomogenkan menjadi suspensi bakteri. Suspensi yang terbentuk disesuaikan tingkat kekeruhannya sesuai dengan standar *MC Farland* 0,5 ( $1 \times 10^8$  CFU/ml).

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah sodium hipoklorit 2,5%. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan nano kitosan sisik ikan nila yang ditambahkan *aquadest*.

Metode pengujian pada penelitian ini adalah dengan uji daya hambat nano kitosan sisik ikan nila ditambah sodium hipoklorit 2,5% dengan nano kitosan sisik ikan nila ditambah sodium hipoklorit 3,5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar. Pemiakan bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 6 koloni diambil menggunakan ose steril, kemudian dioleskan di atas *Mueller Hinton Blood Agar* secara merata. Siapkan 24 buah *blank disc* yang telah ditetesi oleh Larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% 2 ml pada sodium hipoklorit 2,5% sebanyak 6 buah, Larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% 2 ml pada sodium hipoklorit 3,5% sebanyak 6 buah, larutan nano kitosan 0,5% pada *aquadest* sebagai kontrol negatif sebanyak 6 buah dan sodium hipoklorit 2,5% sebagai kontrol positif sebanyak 6 buah . Kemudian *blank disc* tersebut ditempel pada media *Mueller Hinton Blood Agar* yang telah berisi goresan *Staphylococcus aureus*, dimana dalam 1 *Mueller Hinton Blood* agar terdapat 4 jenis larutan sehingga akan didapatkan pengulangan sebanyak 6 kali. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

## HASIL PENELITIAN

Tabel 5.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pengulangan	Zona Hambat (mm)				Kontrol (-)	Kontrol (+)
	Larutan nano kitosan ikan nila 0,5% + sodium hipoklorit 2,5% (P1)	Larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% + sodium hipoklorit 3,5% (P2)	Larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% + sodium hipoklorit 2,5%	Larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% + sodium hipoklorit 3,5%		
I	24	26	0	22		
II	25	30	0	20		
III	24	27	0	21		
IV	23	26	0	17		
V	23	28	0	20		
VI	24	28	0	20		
<b>Rata-rata</b>	<b>23,83</b>	<b>27,5</b>	<b>0</b>	<b>20</b>		

Secara deskriptif tabel diatas menunjukkan hasil pengukuran diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat adalah daerah sekeliling cakram disk yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri atau ditandai adanya zona bening pada media *Mueller Hinton Agar* yang kemudian diukur dengan jangka sorong. Pada tabel diatas menunjukkan rata - rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* paling tinggi yakni pada kelompok larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 3,5% sebesar 27,5 mm kemudian pada kelompok nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 2,5% sebesar 23,83% , kelompok kontrol positif dengan larutan sodium hipoklorit 2,5% sebesar 20 mm serta kelompok kontrol negatif dengan larutan nano kitosan sisik ikan nila ditambah *aquadest* sebesar 0 mm.



Pada penelitian ini data uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk membuktikan bahwa data yang digunakan berdistribusi normal atau tidak. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan pada sampel kecil yaitu kurang dari 30 sampel. Hasil zona hambat pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada tabel 5.2 sebagai berikut

Tabel 5.2 Uji Normalitas Shapiro-Wilk

No.	Kelompok	Nilai p
1.	P1	0,212
2.	P2	0,389
3.	Kontrol (+)	0,238

Berdasarkan hasil uji normalitas data pada tabel 5.2, P1 merupakan perlakuan satu yakni larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 2,5% yang memiliki nilai signifikansi ( $p$ ) = 0,212. P2 merupakan perlakuan dua yakni larutan nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 3,5% yang memiliki nilai  $p$  = 0,389 serta kelas positif merupakan kontrol positif dengan nilai  $p$  = 0,238. Maka nilai signifikansi  $> 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's test*.

Uji homogenitas data menggunakan *Levene's test* pada taraf signifikansi 5% (0,05). Data dikatakan homogen jika signifikansi ( $p$ )  $> 0,05$ . Hasil pengujian homogenitas data ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut.

Tabel 5.3 Uji Homogenitas Levene's test

Levene Statistic	df1	df2	Nilai P
2,654	3	20	0,076



Berdasarkan hasil uji Homogenitas diketahui nilai signifikansi ( $p$ ) adalah 0,076. Maka  $p > 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian homogen. Selanjutnya apabila data terdistribusi normal dan homogen maka digunakan uji statistik parametrik Uji *One Way Anova* untuk membandingkan rerata zona hambat antar kelompok dan dilanjutkan dengan Uji *Post-Hoc Least Significant Difference (LSD)*

Tabel 5.4 Hasil uji One Way Anova untuk mengetahui perbandingan rerata zona hambat antar kelompok

Kelompok Perlakuan	Jumlah Sampel	Rerata (mm)	p
P1	6	23,83 ± 0,75	0,000
P2	6	27,50 ± 1,57	0,000
K (-)	6	0,00 ± 0,00	0,000
K (+)	6	20,00 ± 1,67	0,000

Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* diketahui nilai signifikansi adalah 0,000 yang artinya lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa rata – rata keempat kelompok tersebut berbeda secara signifikan. Kemudian untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan rerata zona hambat, dilanjutkan dengan Uji *Post-Hoc* yaitu *Uji Least Significant Difference (LSD)*.

Tabel 5.5 Hasil uji Post-Hoc yaitu *Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok

Kelompok Perlakuan	Perbedaan rerata (mm)	P
P1 vs K+	3,83	0,000
P1 vs K-	23,83	0,000



P1 vs P2	3,67	0,000
P2 vs K+	7,50	0,000
P2 vs K-	27,50	0,000
K- vs K+	20,00	0,000

---

Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc LSD* diketahui nilai signifikansi (p) adalah 0,000 yang artinya lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata keempat kelompok tersebut berbeda secara signifikan.

## PEMBAHASAN

Nano kitosan sisik ikan nila 0,5% ditambah sodium hipoklorit 2,5% dan 3,5% memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai adanya zona bening dengan kategori daya hambat sangat kuat. nano kitosan efektif sebagai antibakteri tanpa mengiritasi jaringan sekitarnya.<sup>7</sup> Aktivitas antibakteri terjadi karena nano kitosan berikatan dengan protein membran serta phospholipid membran, terutama fosfatidil kolin yang dapat membunuh bakteri dengan mengganggu dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan adanya kerusakan struktur, fungsi dan permeabilitas bakteri kemudian terjadi kebocoran komponen intraseluler dan sel lisis.<sup>7,8</sup>

Larutan sodium hipoklorit menunjukkan kemampuan antiseptik terhadap *Staphylococcus aureus* dikarenakan adanya pembentukan asam hipoklorit dan pelepasan senyawa klorin yang sangat bersifat bakterisida.<sup>9</sup>

Sodium hipoklorit merupakan senyawa yang mengandung klorin dengan sifat antibakteri yang mampu mengoksidasi gugus sulfhidril pada enzim dan mengganggu fungsi metabolik dari sel bakteri.<sup>10</sup> Kombinasi larutan sodium hipoklorit dan nano kitosan dari cangkang udang, kepiting maupun sisik ikan terbukti efektif membersihkan *smear*

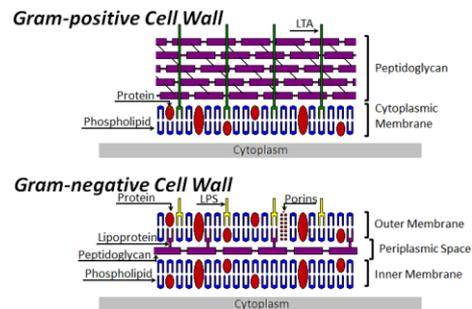
layer serta sifatnya biokompatibel, berpotensi menjadi alternatif bahan irigasi pada perawatan saluran akar gigi.<sup>11</sup>

Interaksi antara nano kitosan cangkang udang dan ranjungan dengan membran sel terluar bakteri, berpengaruh terhadap daya antibakteri yakni semakin tinggi konsentrasi maka daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri semakin besar.<sup>12</sup> Daya hambat bakteri juga dapat disebabkan karena struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan larutan antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.<sup>13</sup> Sedangkan pada struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dan memiliki tiga lapisan, yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida. Sehingga daya hambat bakteri yang terjadi lebih kuat terjadi pada bakteri golongan gram positif.<sup>14</sup>

Gambar 6.1 Anatomi dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif.

Penggunaan kitosan sebagai bahan irigasi saluran akar kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini

disebabkan oleh perbedaan ukuran partikel antara nano kitosan dan kitosan.<sup>15</sup> Nano kitosan merupakan senyawa polikationik yang memiliki kerapatan partikel yang lebih tinggi serta mempunyai kemampuan sebagai antibakteri.<sup>16</sup> Mekanisme nano kitosan sebagai antibakteri didapat dari molekul polikationik nano kitosan berinteraksi dengan sel yang didominasi oleh komponen anionik dinding bakteri (lipopolisakarida dan protein) yang dapat menyebabkan kebocoran intraseluler komponen akibat dari perubahan permeabilitas membran yang menyebabkan nutrisi tidak dapat masuk ke dalam





sel bakteri.<sup>17</sup> Nano kitosan berbentuk membran berpori yang dapat menyerap air pada makanan sehingga akan menghambat pertumbuhan bakteri, nano kitosan lebih lanjut mampu menembus sel dan memblokir DNA sehingga tidak terjadi sintesis RNA dan protein yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menahan muatan ion negatif dari bakteri yang mengakibatkan kebocoran komponen intraseluler, sehingga membunuh bakteri.<sup>18</sup>

Aktivitas antibakteri nano kitosan juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni kelarutan kitosan, berat molekul, dan derajat deasetilasi. Pada penelitian sebelumnya, digunakan pelarut asam asetat 1%, hal ini mungkin menjadi faktor yang mempengaruhi tidak adanya daya hambat karena kurang tingginya persentase keasaman pelarut yang digunakan, sehingga pada penelitian kali ini, peneliti meningkatkan konsentrasi larutan asam asetat menjadi 2%.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **SIMPULAN**

Penambahan larutan nano kitosan sisik ikan nila pada sodium hipoklorit memiliki efektivitas sebagai bahan irigasi alternatif untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada saluran akar gigi.

### **SARAN**

Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas penambahan larutan nano kitosan sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) 0,5% pada sodium hipoklorit 2,5% dan 3,5% secara *in vivo*.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Yusman, T., Mulyawati, E. & Hadriyanto, W., 2013 'Perbedaan Kebocoran Apikal pada Obturasi Saluran Akar Menggunakan Tiga Sealer Berbahan Dasar Resin', *Jurnal Konservasi Gigi Universitas Gadjah Mada*, 4(2), pp. 122–128.
2. Kartinawanti, A. T & Khoiruza A.A., 2021 'Penyakit Pulpa Dan Perawatan Saluran Akar Satu Kali Kunjungan: Literature Review', *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*, 4(2), pp. 64–72.
3. Raharjo, G. dan Santosa, P., 2016 'Perawatan Saluran Akar Satu Kunjungan disertai Restorasi Resin Komposit dengan Pasak Parallel Self-Threading Gigi Molar Kedua Kanan Mandibula Pulpitis Ireversibel', *Majalah Kedokteran Gigi Klinik*, 1(1), p. 63.
4. Abed, A.M., Farhad, S Z., Farhad, A., Barekataan, M., Mafi, M. & Abooie, M. S., 2013 'Debris and smear layer removal efficacy and changes in morphology of dentinal tubules after using citric acid, tetracycline- hydrochloride and mixture of tetracycline and acid and detergent.', *Dental research journal*.
5. Deviyanti, S., 2018 'Potensi Larutan Chitosan 0,2% Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Dalam Perawatan Saluran Akar Gigi', *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi*.
6. Komariah, A., 2015 '*Staphylococcus aureus* (in vitro) Antibacterial Activity of Nano Chitosan on *Staphylococcus aureus* Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya \_', pp. 371–377.
7. Magani, A.K., Tallei, T.E. & Kolondam, B. J., 2020 'Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.', *Jurnal Bios Logos*, 10(1), p. 7.
8. Mardy, D.C., Sudjari. & Rahayu, S.I., 2016 'Perbandingan Efektivitas Kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* secara In Vitro', *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(4), pp. 229–240.
9. Suherman., Latif, M. & Rosmala D, Sisilia, T., 2018 'Potensi Kitosan Kulit Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes*, dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram Kertas', *Media Farmasi*, 14(1), p. 132.
10. Rachmawati, M., Fadil, M. R., Sukartini, E. & Armilia, M., 2011 'Perawatan saluran akar satu kali kunjungan pada gigi insisivus dengan Nekrosis Pulpa tanpa Lesi Periapikal', *Dentofasial*.
11. Widiastuti, D., Karima, I. F. & Setiyani, E., 2019 'Efek Antibakteri Sodium Hypochlorite Terhadap *Staphylococcus Aureus*', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat*, 11(4), pp. 302–307.
12. Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G. & Heras, A., 2012 'Functional Characterization of Chitin and Chitosan', *Current Chemical Biology*, 3(2), pp.203–230.



13. Silva, P. V. *et al.*, 2013 'Chitosan: A new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation', *International Endodontic Journal*.
14. Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S. and Sudewi, S., 2015 'Aktifitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata Polycarpa Aurata', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), pp. 32–44.
15. Ke Cai-Ling., dkk., 2021. Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. *Polymers*. 44.
16. Li, J. & Zhuang, S., 2020 'Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives', *European Polymer Journal*.
17. Nurkhasanah., 2015 'the development of chitosan nanoparticles sabdariffa L calyx extract from indonesia and thailand', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.
18. Rumengan, I., Suptijah, P., Salindeho, N., Wullur, S. & Luntungan, A. H., 2018 Nano Kitosan Dari Sisik Ikan: Aplikasinya Sebagai Pengemas Produk Perikanan.