

PERBANDINGAN DAYA ANTIBAKTERI DISINFECTAN INSTRUMEN PREPARASI SALURAN AKAR NATRIUM HIPOKLORIT 5,25%, GLUTARALDEHID 2%, DAN DISINFECTAN BERBAHAN DASAR GLUTARALDEHID TERHADAP *Bacillus subtilis*

Sartika Putri Utami*, Ema Mulyawati**, Dayinah Harman Soebandi**

*Program Studi Ilmu Konservasi Gigi, Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis,
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

**Departemen Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Asepsis merupakan prinsip dalam dunia kedokteran gigi yang harus dijalankan pada praktek sehari-hari salah satunya dengan melakukan disinfeksi dengan disinfektan tingkat tinggi pada instrumen endodontik. Beberapa jenis disinfektan tingkat tinggi yang diakui adalah glutaraldehid, disinfektan berbasis dasar glutaraldehid, dan natrium hipoklorit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan daya antibakteri natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid sebagai disinfektan instrumen preparasi saluran akar terhadap *B. subtilis*.

Penelitian ini menggunakan metode difusi agar dengan jumlah 9 cawan agar *Mueller-Hinton* yang diinokulasi dengan biakan *B. subtilis* skala McFarland 3. Tiap cawan memiliki 3 sumuran yang masing-masing diisi dengan natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid, kemudian diinkubasi dan diamati serta diukur zona hambatannya. Data penelitian dianalisis dengan ANAVA satu jalur dan uji *post-hoc* LSD.

Hasil ANAVA satu jalur menunjukkan bahwa terdapat pengaruh berupa daya antibakteri dari disinfektan natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid sebagai disinfektan instrumen preparasi saluran akar terhadap *B. subtilis*. Hasil LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara natrium hipoklorit 5,25% dengan glutaraldehid 2%, natrium hipoklorit 5,25% dengan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid, dan glutaraldehid 2% dengan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid.

Kesimpulan penelitian ini adalah bahan disinfektan glutaraldehid 2% memiliki daya antibakteri terkuat terhadap *B. subtilis*, diikuti dengan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid dan yang paling lemah adalah natrium hipoklorit 5,25%.

Kata Kunci : disinfektan tingkat tinggi, instrumen preparasi saluran akar, natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%.

ABSTRACT

Aseptic is a principle in dentistry that must be executed in daily practice by cross-infection control such as disinfection of endodontic instruments with high-level disinfectant (HLD). Some types of recognized high-level disinfectants are glutaraldehyde, glutaraldehyde-based disinfectant and sodium hypochlorite. The aim of this study is to compare the antibacterial potential of 5.25% sodium hypochlorite, 2% glutaraldehyde, and glutaraldehyde-based disinfectant on *B. subtilis*.

Agar diffusion method was used in this study with 9 plate of *Mueller-Hinton* agar which was inoculated with *B. subtilis* culture McFarland scale 3. Three wells were made in each plate and each of the well was filled with a high-level disinfectant, which were 5.25% sodium hypochlorite, 2% glutaraldehyde, and glutaraldehyde-based disinfectant, then incubated and observed and measured its zone of inhibition. Data were analyzed with one-way ANOVA and *post-hoc* LSD test.

One-way ANOVA result showed that 5.25% sodium hypochlorite, 2% glutaraldehyde, and glutaraldehyde-based disinfectant were influential as root canal preparation instruments disinfectants against *B. subtilis*. LSD test result showed that there were significant differences between 5.25% sodium hypochlorite and 2% glutaraldehyde, 5.25% sodium hypochlorite with glutaraldehyde-based disinfectant; between glutaraldehyde 2% with glutaraldehyde-based disinfectant.

The study concluded that 2% glutaraldehyde had the strongest antibacterial potential against *B. subtilis*, followed by glutaraldehyde-based disinfectant, and the weakest is 5.25% sodium hypochlorite.

Keywords : high-level disinfectant (HLD), root canal preparation instruments disinfectant, sodium hypochlorite 5.25%, glutaraldehyde 2%, glutaraldehyde-based disinfectant.

PENDAHULUAN

Asepsis merupakan prinsip dalam dunia kedokteran gigi yang harus dijalankan pada praktek sehari-hari dan salah satu caranya adalah dengan kontrol infeksi silang. Kontrol infeksi silang merupakan permasalahan yang terus di-

hadapi oleh praktisi kedokteran gigi saat ini untuk mencegah penularan penyakit melalui rongga mulut¹. Salah satu tindakan pencegahan infeksi silang tersebut adalah melakukan sterilisasi instrumen endodontik ketika instrumen tersebut digunakan berulang kali, termasuk didalamnya adalah *file* NiTi^{2,3}.

Disamping memiliki sejumlah kelebihan dibandingkan *file* endodontik manual maupun *stainless steel*, *file* NiTi putar juga memiliki kekurangan yaitu biaya operasional yang tinggi dan menyebabkan dokter gigi sebagai penggunaannya menggunakan alat ini tidak sekali pakai^{4,5}. Menurut peraturan *British Department of Health* Tahun 2013⁶, para dokter gigi hendaknya memperlakukan *reamer* dan *file* endodontik sebagai alat dengan penggunaan sekali pakai (*single-use instrument*) untuk mengurangi risiko penularan penyakit, terlepas dari bagaimanapun desain asal pabriknya. Meskipun begitu, 54,3% dari 348 dokter gigi menggunakan satu *file* NiTi putar untuk lebih dari sepuluh kali penggunaan dan hanya 1,9% dokter gigi yang menggunakan satu *file* untuk satu kali penggunaan⁵. Oleh karena tingginya angka penggunaan berulang dari *file* NiTi maka prosedur pembersihan yang efektif harus dilakukan sebelum melanjutkan ke proses sterilisasi⁴.

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa mengelap *file* dengan kain kasa yang telah direndam alkohol, menyikat *file* dibawah aliran air, atau menggunakan alat *ultrasonic bath* terbukti tidak efektif dalam membersihkan dan mendisinfeksi *file*⁷. Peralatan kedokteran gigi dengan tipe kritis seperti *file* jika akan digunakan kembali hanya dapat diproses ulang dengan sterilisasi atau dengan disinfektan tingkat tinggi⁸. Disinfektan tingkat tinggi adalah bahan kimia yang dapat digunakan sebagai sterilan yang digunakan dalam waktu yang lebih singkat atau bahan kimia yang dapat membunuh semua bentuk mikroorganisme dalam atau pada permukaan peralatan medis maupun peralatan kedokteran gigi, termasuk spora dalam jumlah sedikit⁹. Terdapat beberapa jenis disinfektan tingkat tinggi yang diakui, diantaranya adalah glutaraldehid, disinfektan berbasis dasar glutaraldehid, dan natrium hipoklorit¹⁰.

Natrium hipoklorit (NaOCl) merupakan disinfektan tingkat tinggi yang mekanisme kerjanya adalah membunuh mikroorganisme dengan mengoksidasi ikatan peptida pada membran sel dan mendenaturasi protein¹¹. Akan tetapi, menurut beberapa penelitian merendam *file* kedalam larutan NaOCl dengan konsentrasi 5,25% selama 5 menit dianggap paling efektif untuk disinfeksi *file* meskipun dapat menyebabkan korosi dan pelepasan unsur nikel dari *file* yang memperbesar risiko patahnya *file* NiTi putar saat digunakan^{3,12}.

Disinfektan lain yang dapat digunakan selain NaOCl adalah glutaraldehid. Glutaraldehid merupakan disinfektan kuat, bersifat bakterisida, virusida, dan fungisida, serta bersifat non-korosif sehingga dapat menjadi alternatif bahan disinfektan untuk *file* NiTi. Glutaraldehid yang digunakan sebagai disinfektan adalah glutaraldehid alkali dengan konsentrasi 2% dan lama kontak antara 2 sampai 10 menit^{2,13}. Glutaraldehid memiliki mekanisme kerja berupa bakterisida melalui proses alkilasi protein membran dan inti sel¹¹. Selain glutaraldehid murni saat ini banyak juga dipasarkan berbagai macam disinfektan berbasis dasar glutaraldehid dengan berbagai konsentrasi yang dicampur dengan disinfektan lain sehingga meningkatkan efektivitas serta memperpanjang masa simpan disinfektan tersebut¹⁴.

Efektivitas disinfektan tingkat tinggi dapat diuji dengan menggunakan bakteri yang dapat membentuk spora seperti *Bacillus subtilis*¹⁵. Bakteri ini digunakan sebagai standar mikroorganisme uji disinfektan tingkat tinggi karena sifatnya yang dapat bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrim melalui pembentukan endospora. Selain itu *Environmental Protection Agency* (EPA) tahun 2014¹⁶ yang merupakan lembaga kesehatan lingkungan hidup Amerika Serikat juga mengatakan dalam menguji disinfektan tingkat tinggi pada peralatan dengan permukaan keras harus menggunakan *B. subtilis* sebagai mikroorganisme uji.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan daya antibakteri disinfektan instrumen preparasi saluran akar natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbasis dasar glutaraldehid sebagai disinfektan instrumen preparasi saluran akar terhadap *B. subtilis*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yang menggunakan metode difusi agar. Hal ini dilakukan untuk melihat secara langsung perbandingan daya antibakteri ketiga disinfektan uji terhadap *B. subtilis* melalui pembentukan zona hambat. Semua tahap perlakuan pada penelitian ini dilakukan dalam *Laminar Air Flow* untuk menghindari adanya kontaminasi mikroorganisme lain.

Subjek penelitian yang digunakan adalah *B. subtilis* yang dikultur pada media agar

Mueller-Hinton sebanyak 9 cawan petri. Setiap cawan petri dibuat 3 sumuran untuk masing-masing disinfektan dengan jarak sama antar satu sumuran dengan lainnya. Pembuatan sumuran dibantu dengan pola sumuran yang telah dibuat sebelumnya dan juga dengan perforator berupa silinder besi berdiameter 6 mm. Setelah sumuran dibuat, diberi kode pada tiap sumuran di dasar cawan untuk menandai jenis disinfektan yang akan dimasukkan dalam sumuran. Kode A adalah untuk kelompok disinfektan uji NaOCl 5,25%. Kode B adalah untuk kelompok disinfektan uji glutaraldehid 2%, sedangkan kode C untuk kelompok disinfektan uji disinfektan berbahan dasar glutaraldehid. Masing-masing disinfektan kemudian dimasukkan kedalam sumuran secara aseptis sebanyak 50 µl menggunakan *micropipette* dan *microtip*. Setelah itu semua subjek penelitian dimasukkan dalam inkubator 37°C selama 24 jam.

Data didapatkan dengan mengukur zona hambatan yang terbentuk disekeliling sumuran setelah 24 jam. Zona hambatan berupa area bening disekeliling sumuran dihitung jaraknya dengan jangka sorong dan bantuan meja *colony counter* serta busur derajat. Data yang didapat kemudian dicatat dan dilakukan analisis data menggunakan ANAVA satu jalur dan uji *post-hoc LSD*.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan rerata zona hambat tertinggi terdapat pada kelompok disinfektan glutaraldehid 2%, diikuti oleh kelompok

disinfektan berbahan dasar glutaraldehid, dan yang memiliki rerata zona hambat terendah adalah NaOCl 5,25% yang disajikan pada Tabel 1.

Uji prasyarat yang harus dipenuhi sebelum melakukan uji analisis statistik ANAVA adalah uji normalitas dan homogenitas. Jumlah total sampel pada penelitian ini kurang dari 50 sehingga digunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitasnya menggunakan *Levene's Test*. Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$), sedangkan hasil uji *Levene's Test* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,264 ($p > 0,05$) yang berarti data yang ada memiliki homogenitas variansi antar kelompok perlakuan.

Oleh karena data yang ada berdistribusi normal dan homogen, maka analisis data statistik penelitian ini dapat dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan ANAVA satu jalur. Hasil ANAVA satu jalur tertera pada Tabel 2.

Hasil uji ANAVA satu jalur menunjukkan probabilitas $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh daya antibakteri dari ketiga kelompok disinfektan instrumen preparasi saluran akar yaitu NaOCl 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid terhadap *B. subtilis*.

Uji statistik selanjutnya untuk mengetahui pasangan kelompok disinfektan yang memiliki perbedaan daya antibakteri yang bermakna antara ketiga kelompok disinfektan instrumen preparasi saluran akar yaitu NaOCl 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid terhadap *B. subtilis* adalah uji *LSD*.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi daya antibakteri NaOCl 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid terhadap *B. subtilis* (mm)

Perlakuan	n	Rerata zona hambat ± SD
Kelompok A (NaOCl 5,25%)	9	4,3300±0,00577
Kelompok B (Glutaraldehid 2%)	9	6,9456±0,00930
Kelompok C (Disinfektan berbahan dasar glutaraldehid)	9	6,3378±0,00954

Tabel 2. Hasil ANAVA satu jalur daya antibakteri NaOCl 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid terhadap *B. subtilis*

Sumber Variansi	Jumlah Kuadrat	db	Rerata kuadrat	F	Sig. (p)
Antar kelompok	33,725	2	16,683	26664,053	0,000*
Dalam kelompok	0,015	24	0,001	-	-
Total	33,740	26	-	-	-

Tabel 3. Hasil nilai signifikansi (p) dan selisih rerata uji *LSD* daya antibakteri natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid terhadap *B. subtilis*

Jenis Disinfektan		p	Selisih Rerata
NaOCl 5,25%	Glutaraldehid 2%	0,000*	-2,61
	Disinfektan berbahan dasar glutaraldehid	0,000*	-2,01
Glutaraldehid 2%	NaOCl 5,25%	0,000*	2,61
	Disinfektan berbahan dasar glutaraldehid	0,000*	0,61
Disinfektan berbahan dasar glutaraldehid	NaOCl 5,25%	0,000*	2,01
	Glutaraldehid 2%	0,000*	-0,61

Keterangan : *) $p < 0,05$ = perbedaan bermakna

Hasil uji *LSD* yang diperoleh diperlihatkan pada Tabel 3.

PEMBAHASAN

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Bacillus subtilis* yang termasuk dalam kategori bakteri pembentuk spora. Umumnya bakteri pembentuk spora lebih resisten terhadap disinfektan dibandingkan bakteri vegetatif meskipun terdapat pula variasi strain bakteri vegetatif yang resisten terhadap disinfektan. Resistensi terhadap disinfektan yang paling tinggi dimiliki oleh kista protozoa, diikuti oleh bakteri pembentuk spora, *enteric virus* (virus yang menginfeksi saluran pencernaan atau usus), dan yang memiliki resistensi terendah adalah bakteri vegetatif¹⁷.

Ketiga disinfektan yang diujikan merupakan disinfektan tingkat tinggi yang memiliki sifat bakterisidal spektrum luas¹⁰. Hal inilah yang menyebabkan ketiga disinfektan uji dapat membentuk zona hambat terhadap *B. subtilis*. Glutaraldehid 2% dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid memiliki mekanisme yang berbeda dalam membunuh *B. subtilis* jika dibandingkan dengan NaOCl 5,25%. Natrium hipoklorit merusak integritas dinding dan sitoplasma sel mikroorganisme dengan merusak protein, karbohidrat, serta lipid struktural dari bakteri yang kemudian mengganggu aktivitas protein selular karena memiliki potensi mengoksidasi yang tinggi^{18,19}. Hal ini disebabkan karena NaOCl bersifat elektronegatif, sehingga dapat mengoksidasi ikatan peptida dan mendenaturasi protein dari enzim sel bakteri¹¹. Enzim sulfhidril merupakan enzim yang terganggu aktivitasnya. Akibatnya terjadi penurunan pembentukan adenosin trifosfat sebagai energi utama sel. Hal ini yang menyebabkan

sintesis DNA tertekan dan terjadi kerusakan DNA mikroorganisme¹⁹.

Meskipun secara formula glutaraldehid 2% dengan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid berbeda, mekanisme membunuh *B. subtilis* tidak jauh berbeda. Target utama dari aktivitas antibakteri dari kedua disinfektan tersebut adalah alkilasi (penambahan gugus alkil) pada grup hidroksil, amino, karboksil, dan sulfhidril yang mempengaruhi sintesis RNA, DNA, serta protein dari mikroorganisme^{14,19}. Glutaraldehid juga menyebabkan *cross-linking protein* serta makromolekul pada lapisan terluar dari dinding atau membran sel mikroorganisme. Kemudian hal ini menurunkan penyerapan nutrisi serta interaksi enzim yang penting bagi ketahanan sel mikroorganisme^{19,21}.

Berdasarkan hasil penelitian ini, glutaraldehid 2% memiliki daya antibakteri terkuat. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi daya antibakteri dari glutaraldehid 2%, disinfektan berbahan dasar glutaraldehid, dan NaOCl 5,25%. Faktor yang mempengaruhi daya antibakteri glutaraldehid 2% adalah derajat keasaman. Glutaraldehid 2% yang digunakan pada penelitian ini diaktifkan dengan larutan natrium bikarbonat dengan pH 12 untuk menghasilkan glutaraldehid 2% dengan pH optimal yaitu 7,5-8,5, dimana pada penelitian ini pH larutan glutaraldehid alkalin 2% yang dihasilkan adalah 8,1. Glutaraldehid yang digunakan untuk disinfektan harus memiliki pH 7,5-8,5 dan konsentrasi efektif minimal sekitar 1-1,5% sedangkan untuk disinfektan tingkat tinggi adalah glutaraldehid dengan konsentrasi e^{-2} 2%^{14,19,21}.

Larutan glutaraldehid umumnya tersedia di pasaran dengan konsentrasi 2%, 25%, dan 50%, bersifat asam dengan pH sekitar 3-4¹⁴. Glutaraldehid yang bersifat asam tidak memi-

liki kemampuan sporisidal, tetapi ketika telah diaktivasi dengan mengubahnya bersifat basa dengan menambahkan natrium bikarbonat (NaHCO_3) diketahui akan mengaktivasi kemampuan sporisidal glutaraldehid¹⁹. Akan tetapi hal ini tidak berlaku bila perubahan pH tersebut menggunakan larutan basa lain seperti natrium hidroksida²⁰.

Meningkatnya kemampuan sporisidal dari glutaraldehid aktif tidak hanya berasal dari berubahnya pH glutaraldehid menjadi basa. Ion bikarbonat disinyalir memiliki interaksi kimiawi terhadap lapisan terluar dari spora. Ion bikarbonat dapat membantu membuka lapisan terluar spora sehingga glutaraldehid dapat berpenetrasi lebih baik²⁰. Meski begitu, glutaraldehid yang diaktifkan hanya memiliki masa simpan 14 hari saja sebelum sifat biosidalnya hilang akibat polimerisasi yang terjadi pada molekul glutaraldehid¹⁴.

Seperti halnya glutaraldehid 2%, disinfektan berbahan dasar glutaraldehid juga memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri pembentuk spora. Jika dilihat dari label kemasannya, disinfektan berbahan dasar glutaraldehid yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan berupa glutaraldehid aktif 5%, alkohol, dan akuades steril tanpa mencantumkan perbandingan komposisinya. Berdasarkan hal tersebut, diketahui konsentrasi glutaraldehid pada disinfektan berbahan dasar glutaraldehid yang diujikan lebih besar dibandingkan dengan glutaraldehid 2%. Sehingga seharusnya disinfektan berbahan dasar glutaraldehid ini memiliki daya antibakteri yang lebih baik dibandingkan glutaraldehid 2%. Namun, berdasarkan hasil penelitian daya antibakteri disinfektan berbahan dasar glutaraldehid yang diujikan tidak lebih baik dibandingkan glutaraldehid 2%. Efisiensi disinfeksi dari disinfektan berbahan dasar glutaraldehid tergantung formulasi dari setiap produsen¹⁴. Kemungkinan lainnya adalah adanya interaksi glutaraldehid dengan bahan lain pada disinfektan berbahan dasar glutaraldehid.

Daya antibakteri NaOCl 5,25% dalam mengeliminasi *B. subtilis* pada penelitian ini paling rendah diantara disinfektan yang lain. Salah satu kemungkinan yang mempengaruhi hal ini adalah potensi antibakteri NaOCl pada bakteri pembentuk spora lebih kecil dibandingkan pada bakteri vegetatif (bukan pembentuk spora). Komponen antibakteri utama natrium hipoklorit berupa asam hipoklorus memiliki ke-

mampuan membunuh bakteri pembentuk spora lebih rendah jika dibandingkan terhadap bakteri vegetatif^{19,22}.

Terdapat dua faktor yang sangat mempengaruhi efisiensi disinfeksi dari NaOCl, yaitu adanya substansi organik dan derajat keasaman. Keberadaan substansi organik dapat menghambat efisiensi disinfeksi bahkan dapat menginaktivasi daya antibakteri NaOCl^{17,19}. Daya antibakteri NaOCl lebih tinggi pada suasana netral atau asam dibandingkan pada suasana basa^{19,23}.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian daya antibakteri disinfektan instrumen preparasi saluran akar natrium hipoklorit 5,25%, glutaraldehid 2%, dan disinfektan berbahan dasar glutaraldehid terhadap *B. subtilis* dapat disimpulkan bahwa bahan disinfektan glutaraldehid 2% memiliki daya antibakteri terbesar terhadap *B. subtilis*, diikuti oleh disinfektan berbahan dasar glutaraldehid, dan yang paling lemah daya antibakterinya adalah natrium hipoklorit 5,25%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Venkatasubramanian R, Jayanthi Das U.M., Bhatnagar S. Comparison of the effectiveness of sterilizing endodontic files by 4 different methods: An *in vitro* study. J Indian Soc Pedod Prevent Dent. 2010. 28 (1) : 2-5.
2. Raju TBVG, Garapati S, Agrawal R, Reddy S, Razdan A, Kumar S.K. Sterilizing Endodontic Files by four different sterilization methods to prevent cross-infection - An In-vitro Study. J Int Oral Health. 2013. 5 (6) : 108-12.
3. Punathil, S, Bhat, SS, Bhat SV. Chairside sterilization of endodontic hand files. Int J Adv Res Biol Sci. 2014. 1 (5) : 162-5.
4. O'Hoy PYZ, Messer HH, Palamara JEA. The effect of cleaning procedures on fracture properties and corrosion of NiTi files. Int Endod J. 2003. 36 : 724-32.
5. Lee W, Song M, Lee H, Kim WC. A survey of experience-based preference of Nickel-Titanium rotary files and incidence of fracture among general dentists, Restor Dent Endod. 2012. 37 (4): 201-6.
6. British Department of Health. [Internet]. 2013 [dikutip 17 Juni 2015]. Diunduh dari : https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/170689/HTM_01-05_2013.pdf.

7. Sood K, Mohan B, Lakshminarayanan L. Effect of cleaning and sterilization procedures on NiTi rotary files : an SEM and EDS study. *Endodontology*. 2006. 18 (1) : 34-41.
8. Ada.org. [Internet]. 2009 [dikutip 17 Juni 2015]. Diunduh dari: http://www.ada.org/~media/ADA/Member%20Center/Files/cdc_sterilization.ashx.
9. Rutala, WA, Weber DJ. Disinfection and sterilization: An overview. *Am J Infect Control*, 2013. 41 : S2-S5.
10. Fda.gov. FDA-Cleared Sterilants and High Level Disinfectants with General Claims for Processing Reusable Medical and Dental Devices - March 2015 [Internet]. 2015 [dikutip 17 June 2015]. Diunduh dari: <http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/ReprocessingofReusableMedicalDevices/ucm437347.htm>.
11. Maris P. Modes of action of disinfectants. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 1995. 14(1) : 47-55.
12. Bonaccorso A, Tripi TR, Cantatore G, Condorelli GG. Surface properties of nickel-titanium rotary instruments. *Endo*. 2007.1 (1) : 45-52.
13. Tjay TH, Rahardja K. , Obat-Obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya, Ed. 6. Jakarta : Elex Media Komputindo; 2007. 250-251.
14. Rutala W, Weber D, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), 2008, CDC : Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities [Internet]. 2008 [dikutip 30 March 2015]. Diunduh dari: http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf
15. Steinhauer K. Antimicrobial Efficacy and Systematic Use of Disinfectants. In : Méndez-Vilas A, editor. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Volume 1. Badajoz : Formatex. 2010. 369-376.
16. epa.gov. Efficacy Testing Standards for Product Data Call-In Responses [Internet]. 2014 [dikutip 17 June 2015]. Diunduh dari: http://www.epa.gov/oppad001/efficacy_testing_standards_reregistration.pdf.
17. Said NI, Widayat W. *Teknologi Pengolahan Air Limbah Rumah Sakit dengan Proses Biofilter Anaerob-Aerob*. Jakarta : Pusat Teknologi Lingkungan Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi; 2013. 190.
18. Foley SL, Chen AY, Simjee S, Zervos MJ. *Molecular Techniques for the Study of Hospital Acquired Infection*. New Jersey : Wiley & Blackwell; 2011. 98.
19. Fraiese SL, Maillard J-Y, Sattar SA. Russell, Hugo, and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. West Sussex : Blackwell Publishing Ltd. 2013.
20. Ascenzi JM., *Handbook of Disinfectants and Antiseptics*, New York : Marcel Dekker Inc; 1996. 120.
21. Migneault I, Dartiguenave C, Bertrand MJ, Waldron KC., *Glutaraldehyde : behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking*. *BioTechniques*. 2004. 37 : 790-802.
22. Eryilmaz M, Palabiyik IM., *Hypochlorous Acid-Analytical Methods and Antimicrobial Activity*. *Trop J PharmRes*. 2013. 12 (1) : 123-126.
23. Arirachakaran P, Sinheng W, Theparee T, Arirachakaran AA. Sporicidal effects of common disinfectants and their practical application in dental practice in Thailand. *CU Dent. J*. 2008. 31: 11-18.