

DAYA ANTI BAKTERI BAHAN IRIGASI NaOCl PADA SUHU DAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN *Enterococcus faecalis* (in vitro)

*Yulita Kristanti *N.Deni

* Bagian Ilmu Konservasi Gigi FKG UGM

ABSTRAK

Latar Belakang: NaOCl merupakan bahan irigasi yang sangat efektif untuk melarutkan jaringan pulpa, namun pada konsentrasi yang tinggi bahan ini bersifat toksik. Oleh karena itu diupayakan untuk mengoptimalkan kemampuan antibakteri bahan tersebut dengan menggunakan konsentrasi rendah namun dengan suhu tinggi yang masih dapat diterima rongga mulut. **Tujuan:** Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya antibakteri bahan irigasi NaOCl pada suhu dan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *E. faecalis*.

Metode Penelitian: Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode dilusi. Pada penelitian ini kelompok perlakuan dibagi 4, masing-masing kelompok terdiri atas 5 gigi premolar yang telah dipreparasi saluran akarnya. Selanjutnya kedalam saluran akar masing-masing gigi dituang 10 µl *E. faecalis* 10⁸ CFU/ml dicampur dengan 20 µl NaOCl 1%, 27C (klp I), NaOCl 1%, 50C (klp II), NaOCl 5%, 50C (klp III), NaOCl 5%, 50C (klp IV) selama 30 detik, kemudian diambil 10µl ditanam pada MHA, diinkubasi dan dilakukan penghitungan jumlah koloni. Sebagai kontrol digunakan larutan salin. Data dianalisis dengan Anava dua jalur dilanjutkan dengan LSD. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan rerata bakteri tertinggi terdapat pada pada kelompok 1 yang diberi perlakuan dengan sodium hipoklorit 1% dengan suhu 27°C, diikuti kelompok 2 yang diberi perlakuan dengan sodium hipoklorit 5% dengan suhu 27°C, kelompok 3 yang diberi perlakuan dengan sodium hipoklorit 1% dengan suhu 50°C, dan kelompok 4 yang diberi perlakuan dengan sodium hipoklorit 5% dengan suhu 50°C.

Kesimpulan: Kesimpulan penelitian ini adalah NaOCl suhu 50°C memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *E. faecalis* dibandingkan NaOCl suhu 27°C. Konsentrasi NaOCl yang lebih tinggi memiliki daya antibakteri terhadap *E. faecalis* yang lebih besar dibandingkan konsentrasi yang lebih rendah. *Maj Ked Gi; Desember 2010; 17(2): 91-95*

Kata kunci: NaOCl- suhu – konsentrasi – *E. faecalis*

ABSTRACT

Background: NaOCl irrigation is a highly effective ingredient to dissolve the pulp tissue, but at high concentrations of this material was toxic. Therefore attempted to optimize the ability of antibacterial substances by using low concentrations but with high temperatures that are still acceptable oral cavity. **Objectives:** This study was conducted to know the power of antibacterial substances NaOCl irrigation at temperatures and concentrations different on the growth of bacteria *E. faecalis*

Method: The method used in this study is the method of dilution. In this study, the treatment group divided by 4, each group consists of 5 premolar teeth that had been prepared their root canal. Further into the root canal of each teeth was poured 10 mL of *E. faecalis* 10⁸ CFU / ml mixed with 20 mL 1% NaOCl, 27C (klp I), 1% NaOCl, 50C (klp II), NaOCl 5%, 50C (klp III), NaOCl 5%, 50C (klp IV) during 30 seconds, then taken 10µl grown on MHA, incubated and count the number of colonies. Saline was used as control. Data analyzed by Anova followed by a two-lanes LSD. Results showed the mean highest bacteria present in the group 1 who were treated with sodium hypochlorite 1% with a temperature of 270C, followed by group 2 who were treated with sodium hypochlorite 5% with a temperature of 270C, group 3 who were treated with sodium hypochlorite 1% with a temperature of 500C, and group 4 treated with sodium hypochlorite 5% with a temperature of 500C.

Conclusion: The conclusion of this study is NaOCl temperature of 500C has a greater antibacterial activity against *E. faecalis* than NaOCl temperature of 270C. Higher concentration of NaOCl has its antibacterial against *E. faecalis* larger than lower concentrations. *Maj Ked Gi; Desember 2010; 17(2): 91-95*

Key words: NaOCl-temperature - concentration - *E. faecalis*

PENDAHULUAN

Untuk mendukung keberhasilan perawatan endodontik peran dari pembersihan dan pembentukan saluran akar tidak dapat diabaikan. Hal ini oleh karena bentuk dentin yang kurang teratur dapat menjadi peluang bagi bakteri untuk dapat berkembang biak dengan cepat. Bakteri yang masih berada pada saluran akar dapat menjadi faktor kegagalan utama dalam perawatan saluran akar. Oleh karena itu se-

lama dan sesudah pembersihan dan pembentukan saluran akar harus dilakukan irigasi untuk menghilangkan fragmen jaringan pulpa dan serpihan dentin hasil preparasi. Dalam kaitannya dengan ini, larutan irigasi yang digunakan untuk membersihkan saluran akar harus mampu melarutkan debris organik dan anorganik, mampu berperan dalam pelumasan instrumen endodontik, tidak toksik, ekonomis, mempunyai efek bakterisidal yang maksimal dan dapat mengurangi rasa tidak nyaman pada pasien¹.

Beberapa bahan irigasi saluran akar yang digunakan dalam prosedur perawatan saluran akar antara lain *camphorated monochlorophenol* (CMCP), *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), formokresol, hidrogen peroksida, klorheksidin dan sodium hipoklorit². Beberapa macam bahan irigasi yang pernah dianjurkan antara lain, larutan salin fisiologik, larutan urea 30%, larutan ureaperoksida dalam gliserin, larutan khloramin, sodium hipoklorit dan sodium hipoklorit yang digunakan bersama dengan EDTA³.

Dari sejumlah larutan yang pernah diteliti, NaOCl, yaitu suatu agensia pereduksi yang jernih, merupakan bahan irigasi yang paling efektif dan masih menjadi pilihan yang banyak dipakai dalam endodontik modern. Dengan berkembangnya alat-alat preparasi yang mengarah ke instrumen *rotary*, waktu preparasi menjadi berkurang sehingga bahan irigasi yang dipilih harus memiliki daya antibakteri yang dapat bekerja dengan cepat untuk melawan mikroorganisme yang masih tersisa di saluran akar. Irigasi pasif dengan ultrasonik menggunakan bahan ini menunjukkan peningkatan penetrasi yang lebih efektif dari bahan ini sampai ke daerah-daerah yang sulit dijangkau dalam sistem saluran akar. Bahan ini secara total dapat melarutkan seluruh pulpa dalam 20 menit sampai 2 jam. Meskipun demikian, NaOCl juga mempunyai beberapa kelemahan, antara lain bahan ini kurang efektif pada saluran akar yang sempit, korosif terhadap metal, sangat alkaline, hipertonic dan rasanya tidak enak. NaOCl dapat menjadi rusak oleh waktu, suhu, pengaruh cahaya dan kontaminasi ion logam, oleh karena itu harus disimpan pada tempat yang teduh dan tidak terkena sinar matahari. Diameter saluran akar dan *taper* menunjukkan peran yang cukup penting dalam mendukung efektivitas bahan irigasi.

NaOCl tidak hanya merupakan pelarut pulpa yang efektif, melainkan juga mempunyai sifat antimikrobal yang signifikan. Selain bersifat bakterisidal, NaOCl juga virusidal. Agent ini dapat melarutkan protein, mempunyai viskositas rendah, konsentrasi NaOCl yang biasa digunakan adalah berkisar antara 0,5-5,24%⁴.

Enterococcus faecalis, merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus, *non motile* dan bersifat anaerob fakultatif⁵. Banyak ditemukan pada kasus infeksi saluran akar yang persisten. Bakteri ini virulensinya tinggi, mampu berpenetrasi ke dalam tubulus dentinalis sehingga mampu bertahan hidup pada saat dilakukan preparasi biomekanis dan memiliki resistensi yang tinggi terhadap agen antimikroba spektrum luas^{6,7}. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri anaerob obligat lebih mudah dieliminasi pada prosedur endodontik dibandingkan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob sehingga bakteri fakultatif anaerob terbukti lebih resisten terhadap prosedur biomekanis. Selain bakteri, mikroorganisme yang mampu bertahan hidup pada saat prosedur en-

dodontik adalah golongan fungi seperti *Candida albicans*⁸.

Suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Suhu maksimum merupakan batas suhu yang mampu diterima bakteri untuk dapat melakukan pertumbuhan dan metabolisme. Peningkatan suhu yang melebihi suhu maksimum pertumbuhan dapat bersifat mikrobiosidal karena menghentikan pertumbuhan bakteri namun apabila dipertahankan lebih lama dapat menyebabkan inaktivasi permanen yaitu denaturasi protein dan enzim serta kematian sel. Suhu yang tinggi juga menyebabkan perubahan bentuk pada enzim sehingga bakteri tidak mampu melakukan metabolisme. Adapun suhu yang masih dapat ditolerir rongga mulut adalah 50°C

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas perlu kiranya dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri larutan NaOCl pada suhu dan konsentrasi yang berbeda terhadap *Enterococcus faecalis*. Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Sodium Hipoklorit 1% dan 5% yang dipanaskan memiliki daya antibakteri terhadap *E. faecalis* yang lebih besar dibandingkan sodium hipoklorit yang tidak dipanaskan
2. Konsentrasi sodium hipoklorit yang lebih tinggi memiliki daya antibakteri yang lebih besar terhadap *E. faecalis*
3. Terdapat hubungan antara konsentrasi sodium hipoklorit dan suhu yang dipanaskan metode penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada terhadap 25 buah gigi yang terbagi dalam 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Akar gigi yang telah dilakukan sterilisasi dengan autoklaf diletakkan secara vertikal pada kotak yang terbuat dari malam yang telah dilubangi kemudian sebanyak 10 µl suspensi bakteri *Enterococcus faecalis* 10⁸ CFU/ml dimasukkan ke dalam saluran akar dengan pipet mikro dan dibantu dengan menggunakan *K-file* steril untuk membawa suspensi bakteri pada sepanjang saluran akar.

Dua puluh µl larutan NaOCl ditambahkan ke dalam suspensi bakteri pada masing - masing gigi dengan suhu 27°C dan selanjutnya pada suhu 50°C. Kelompok kontrol diberi perlakuan berupa penambahan larutan salin steril sebanyak 20 µl dengan suhu 27°C.

Pemberian larutan irigasi dilakukan dengan menggunakan pipet mikro dengan waktu kontak selama 30 detik yang dihitung dengan menggunakan *stopwatch*. Setelah itu masing-masing saluran akar dicuci dengan menggunakan salin steril sebanyak 1 ml untuk membuang bahan irigasi. Akar gigi kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml salin steril dan diletakkan pada *vortex mixer*

selama 1 menit agar bakteri dan sisa larutan irigasi yang menempel pada dinding saluran akar terlepas dan larut dalam salin steril.

Setelah semua kelompok di vorteks, larutan dari masing-masing kelompok perlakuan (suhu 27°C, 50°C dan kelompok kontrol diambil dengan menggunakan pipet mikro steril sebanyak 10µl, diteteskan pada media agar MHA kemudian diratakan dengan spreader dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Jumlah bakteri yang tumbuh pada media agar kemudian dihitung dengan bantuan alat yang dinamakan colony counter.

Pembacaan hasil dilakukan setelah semua media agar diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang masih hidup pada media agar. Jumlah koloni bakteri digunakan untuk menghitung angka kuman pada masing-masing suhu NaOCl 0,5% dan 5% dan larutan kontrol dengan menggunakan rumus sebagai berikut⁹.

$$\text{Angka kuman/bakteri} = \frac{\text{Jumlah bakteri} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Volume larutan yang dihitung}}$$

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan rerata dan simpangan baku jumlah koloni *E. faecalis* pada suhu masing-masing kelompok setelah dikontakkan dengan sodium hipoklorit selama 30 detik menunjukkan hasil rerata bakteri tertinggi terdapat pada pada kelompok 1 yang diberi perlakuan dengan sodium hipoklorit 1% dengan suhu 27°C yaitu 209,2 x 10⁴CFU/ml, yang terendah yaitu kelompok 4 yang diberi perlakuan dengan sodium hipoklorit 5% suhu 50°C yaitu 5,4 x 10⁴CFU/ml (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata dan standard deviasi jumlah koloni *E. faecalis* setelah pemberian NaOCl konsentrasi 1% dan 5% dengan suhu 27°C dan 50°C (CFU/ml)

Suhu Konsentrasi	27 °C	50°C
Na O C l 1%	209,2 x 10 ⁴ ± 2,77	14,4 x 10 ⁴ ± 3,05
Na O C l 5%	126,6 x 10 ⁴ ± 2,70	5,4 x 10 ⁴ ± 1,52

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa terdapat penurunan jumlah koloni *E. faecalis* pada suhu dan konsentrasi larutan irigasi yang lebih tinggi. Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji normalitas

dan uji homogenitas, dilanjutkan dengan Anava dua jalur. Uji normalitas pada 20 sampel yang didapatkan dari hasil penelitian diuji dengan *Shapiro-Wilk* oleh karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 (Tabel 2).

	Statistik	df	Sig
Konsentrasi 1% dengan suhu	27 C0,876	5	0,292
Konsentrasi 1% dengan suhu 50 C	0,914	5	0,492
Konsentrasi 5% dengan suhu 27 C	0,990	5	0,980
Konsentrasi 5% dengan suhu 50 C	0,923	5	0,923

Tes Levene menunjukkan bahwa nilai signifikansi menunjukkan angka 0,323 sehingga dapat disimpulkan bahwa data homogen. Berdasarkan kedua uji tersebut, maka data penelitian memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik. Data kemudian dianalisis dengan ANOVA dua jalur.

Tabel 3 Hasil perhitungan ANOVA dua jalur efek kenaikan suhu dan konsentrasi bahan irigasi sodium hipoklorit 1% dibandingkan sodium hipoklorit 5% terhadap *E. faecalis* (*in vitro*) pada p<0,05

Jumlah koloni	Rerata Kuadrat	df	F Hitung	Sig
Antar kelompok suhu Dan konsentrasi	10488,200	1	18769,925	0,000
Dalam kelompok suhu	124820,000	1	1018226	0,000
Dalam kelompok konsentrasi	6771,200	1	1577,173	0,000
Total				

Ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh suhu dan konsentrasi larutan sodium hipoklorit terhadap pertumbuhan koloni *E. faecalis* (p<0,05). Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significance Difference*) dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui derajat beda antar dua kelompok perlakuan (Tabel 4).

LSD_{tabel} dengan tingkat kepercayaan 95% (α= 0,05) dengan interaksi derajat bebas 16 menunjukkan nilai 2,12 sehingga didapatkan bahwa nilai LSD_{hitung} adalah ± 7,72. Kemaknaan dari pengaruh suhu dan konsentrasi sodium hipoklorit diketahui dengan

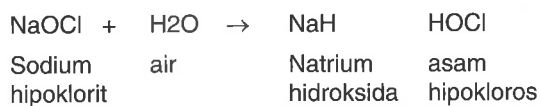
membandingkan selisih rerata kedua kelompok dengan nilai LSD_{hitung} (tabel 4)

Tabel 4. Rangkuman hasil uji $LSD_{0,05}$ (*Least Significance Difference*) koloni bakteri *E. faecalis* setelah diberi aplikasi larutan irigasi sodium hipoklorit pada berbagai suhu dan konsentrasi pada $p < 0,05$

Kelompok Perlakuan	Beda antar rerata	Kemaknaan
1-2	196,6	Bermakna
1-3	203,8	Bermakna
1-4	199,8	Bermakna
2-3	121,2	Bermakna
2-4	112,2	Bermakna
3-4	9,0	Bermakna

Keterangan : 1 = Sodium Hipoklorit 1% suhu 270C
2 = Sodium Hipoklorit 5% suhu 270C
3 = Sodium Hipoklorit 1% suhu 500C
4 = Sodium Hipoklorit 5% suhu 500C

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri sodium hipoklorit dengan suhu dan konsentrasi berbeda terhadap *E. faecalis*. Penelitian ini menggunakan NaOCl (karena NaOCl mempunyai aktivitas antimikroba spektrum luas, mampu melawan mikroorganisme anaerob dan fakultatif anaerob, dapat melarutkan jaringan pulpa nekrotik. NaOCl juga paling efektif sebagai anti mikroba dibandingkan bahan irigasi yang lain¹⁰ dan pertumbuhan bakteri anaerob dalam saluran akar dapat terhambat karena adanya oksigen dalam NaOCl¹¹(Vanabel dan Lopresti, 2004). Berikut adalah reaksi terbentuknya asam hipokloros yang berperan penting dalam proses disinfeksi¹²:



E. faecalis adalah salah satu bakteri patogen yang memiliki suhu pertumbuhan optimum 30-40°¹³, dan memiliki resistensi yang tinggi terhadap medikamen saluran akar¹⁴. Bakteri ini lebih banyak ditemukan pada gigi yang mengalami kegagalan perawatan saluran akar dibandingkan pada infeksi primer, oleh karena itu keberadaan bakteri ini seringkali merupakan indikator kegagalan perawatan saluran akar¹⁵.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi karena metode ini cukup akurat untuk pemeriksaan daya anti bakteri, dapat mengon-

trol waktu paparan bahan yang akan diteliti terhadap mikroorganisme yang akan diteliti⁹

Adapun alasan pemilihan suhu yang berbeda yang digunakan dalam penelitian ini adalah karena kecepatan reaksi kimia dipengaruhi oleh suhu. Kecepatan suatu reaksi kimia dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain suhu, konsentrasi, ukuran partikel, luas permukaan partikel dan katalis, sehingga dengan suhu yang lebih tinggi energi kinetik molekul dan tumbukan antar molekul yang terjadi juga lebih tinggi. Kecepatan reaksi kimia akan meningkat 2 kali lipat untuk setiap peningkatan suhu 10°C, dan setelah suhu optimum tercapai, mekanisme reaksi kimia akan bergerak makin lambat sampai akhirnya berhenti¹⁶. Pada penelitian ini dipilih suhu 27°C karena suhu 27°C adalah merupakan suhu kamar, sedangkan suhu 50°C adalah suhu yang masih dapat diterima rongga mulut.

Pada penelitian ini NaOCl yang digunakan adalah konsentrasi 1 % dan 5 % karena NaOCl yang digunakan untuk irigasi saluran akar adalah konsentrasi 0,5% sampai dengan 5,25%, di bawah konsentrasi tersebut NaOCl tidak menunjukkan efek anti mikroba¹⁶. NaOCl konsentrasi 1-5,25% mempunyai kemampuan melarutkan jaringan yang cukup besar, kemampuan inaktivasi toksin sedikit, kemampuan melarutkan *smear layer* (bahan organik) cukup banyak¹⁰.

Pada penelitian ini NaOCl 5% suhu 50°C memperlihatkan jumlah koloni bakteri yang paling sedikit, diikuti sodium NaOCl 1% suhu 50°C, NaOCl 5% suhu 27°C, dan NaOCl 1% suhu 27°C. Hipotesis yang mengatakan bahwa konsentrasi NaOCl yang lebih tinggi memiliki daya anti bakteri terhadap *E. faecalis* yang lebih besar. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa efektivitas NaOCl dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu aplikasi¹⁶. NaOCl dengan konsentrasi yang lebih besar mempunyai kemampuan melarutkan jaringan yang lebih besar pula. Konsentrasi NaOCl yang besar memberikan sedikit keuntungan antibakteri, namun lebih sitotoksik¹⁷. Selain itu, hasil penelitian ini juga menunjukkan faktor suhu cukup berperan dalam meningkatkan efektivitas bahan irigasi. Hal ini terlihat dari hasil penghitungan jumlah koloni bakteri yang memperlihatkan angka yang relatif rendah pada NaOCl dengan konsentrasi 1% suhu 50 °C. Hipotesis yang mengatakan bahwa NaOCl yang dipanaskan sampai suhu 50°C memiliki daya antibakteri yang lebih besar terbukti.

Hasil ini sesuai dengan pernyataan peneliti sebelumnya yang menyatakan bahwa kecepatan reaksi kimia dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain suhu, konsentrasi, ukuran partikel, luas permukaan partikel dan katalis. Biasanya peningkatan suhu berhubungan dengan peningkatan kecepatan reaksi. Kecepatan reaksi kimia akan meningkat 2 kali lipat setiap peningkatan suhu 10°C. Pada saat suhu

mencapai optimum mekanisme aksi beberapa bahan kimia mungkin akan berubah, reaksi kimia akan menjadi lebih lambat atau bahkan akan berhenti¹⁸. Peningkatan suhu dapat meningkatkan aktivitas antibakteri sehingga lebih banyak bakteri yang terbunuh¹⁹. Hasil ini juga didukung oleh penelitian lain yang menunjukkan bahwa NaOCl 2,6% pada suhu 37C membutuhkan waktu yang lebih sedikit untuk membunuh mikroorganisme dibandingkan NaOCl suhu kamar²⁰.

Aplikasi suhu yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan suhu pertumbuhan bakteri mesofil seperti *E. faecalis* (30-40C) dapat bersifat mikrobisidal karena dapat menghentikan pertumbuhan bakteri namun apabila dipertahankan lebih lama dapat menyebabkan inaktivasi permanen yaitu denaturasi protein dan enzim serta kematian sel. Suhu yang tinggi juga dapat menyebabkan perubahan bentuk pada enzim sehingga bakteri tidak mampu melakukan metabolisme sehingga akan mengganggu fungsi sel dan menyebabkan kematian¹⁹.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. NaOCl 1% dan 5% yang dipanaskan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *E. faecalis* dibandingkan NaOCl yang tidak dipanaskan.
2. Konsentrasi sodium hipoklorit yang lebih tinggi memiliki daya antibakteri terhadap *E. faecalis* yang lebih besar
3. Terdapat hubungan antara konsentrasi sodium hipoklorit dan suhu yang dipanaskan

B. Saran

Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat apakah kenaikan suhu NaOCl berpengaruh terhadap sifat fisik dentin dan meningkatkan toksisitas bahan terhadap jaringan keras gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nirmala, V., 2005, Effects of Irrigation Solutions and Calcium Hydroxide Dressing on Root Canal Treatments of Periapical Lesions, *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.)*, 39(1): 28-31
2. Dang, E., 2008, Comparison of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate: Quality of Current Evidence, *JYI*, 19(6)
3. Grossman, LI, Oliet S.& Del Rio CE, 1995, *Ilmu Endodontik dalam Praktek* (terj), 11 th ed, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta , 205-211.
4. Tarigan, R., 2004, Perawatan Pulpa Gigi (endodonti), EGC, Jakarta, p. 88-89.
5. Weasley, G., 2009, *Enterococcus faecalis*, http://www.ebi.ac.uk/2can/genomes/bacteria/Enterococcus_faecalis.html, diunduh 31/3/2009
6. Siquiera Jr.JF.& Uzeda M., 1997, Intracanal Medicaments : Evaluation of the Antibacterial Effects of Chlorhexidine, Metronidazole, and Calcium Hydroxide Associated with three Vehicles, *JOE* 23 : 167-9
7. Ercan, E., Dulgergil T.& Yavuz I., 2006, The Effect of Antibacterial Solutions on Microorganisms Isolated From Infected Root Canal In Vivo, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 20(1)
8. Ferrari, PHP, Cai, S., and Bombana, AC., Effect of Endodontic Prosedure on Enterococci, Enteric Bacteria and Yeasts in Primary Endodontic Infections, *Int. Endod J.*, 38: 372-80
9. Washington, JA., 1985, *Susceptibility Test : Macrodilution and Microdilution Broth Procedure*, Washington, 972-7
10. Zehnder,M., 2006, Root canal irrigants, *J. Endod.*, Vol. 32(5): 389-398
11. Vanabel , ED., dan Lopresti, LR., 2004, *Using Dental Material*, Pearson Prestice Hall, New Jersey,p.229
12. Randy Schueller, 2009, http://science.jrank.org/pages/6243/Sodium_hypoclorite.html, diunduh 12 /09/2010
13. Talano, KP, 2002, *Foundations in Microbiology* 5th ed, Mc Graw-Hill, Philadelphia, 201
14. Weine, FS., 2004, *Endodontic Therapy* 6th Edition, Mosby Inc : St. Louis Missouri. 501
15. Rocas, IN., Siquiera Jr. JF., and Santos KRN., 2004, Association of enterococcus faecalis With Different Forms of Periradicular Diseases, *JOE* 30 (5): 315-20
16. Himel, VT., 2006, Cleaning and Shaping of the Root Canal System dalam Cohen, S dan Hargreaves, KM (eds): *Pathway of the Pulp*, 9th ed., Mosby Elsevier, St. Louis, pp 465-468
17. Ford, TRP., 2004, *Harty's Endodontics in Clinical Practice* 5th ed., Wright, Edinburg, pp 1,17,51,77,85
18. Anonim, 2010, *Sodium Hypochlorite*, Bison Laboratories Inc., New York, [http://www.bisonlabs.com/Sodium-Hypochlorite.aspx\(25/03/2010\)](http://www.bisonlabs.com/Sodium-Hypochlorite.aspx(25/03/2010))
19. Pelczar, MJ, and Chan, ECS, 1981, *Elements of microbiology*, 1st ed., McGraw Hill Book Company, 311-315
20. Cunningham, WT., Joseph, SW., and Bethesda, 1980, Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant, *Oral Surg.* 50(6):569-71