

Research Report

Daya bunuh dan daya hambat antimikrobal *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% sebagai medikamen saluran akar terhadap *Enterococcus faecalis*

The ability of chlorhexidine 2% and povidone iodine 1% as root canal medicaments to kill and inhibit Enterococcus faecalis

Nathania Astria¹, Ari Subiyanto², Latief Mooduto²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, Surabaya

²Staf Pengajar Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRACT

Background. *Enterococcus faecalis* is one of the pathogenic organisms associated with root canal treatment failure and apical periodontitis. Root canal medicament is needed to prevent re-infection in the root canal and increase the success of treatment. Chlorhexidine and povidone iodine is a broad spectrum root canal medicaments that can kill gram-positive bacteria. **Purpose.** The purpose of this study was to discover the ability to kill and inhibit of antimicrobial chlorhexidine 2% and 1% povidone iodine as root canal medicaments against bacteria *Enterococcus faecalis*. **Method.** This research was done by measuring the inhibition zone and count the number of colonies. Determination of the inhibition of root canal medicaments against *Enterococcus faecalis* by diffusion method. 10 microliter root canal medicaments dropped on paperdisk and placed on nutrient agar media with *enterococcus faecalis*, then inhibition zone was calculated. Determination ability to kill *enterococcus faecalis* is done by inserting 1 ml medicaments root canal into 5 ml BHIB media, then 0.05 ml inoculum of *Enterococcus faecalis* inserted into each tube, except the negative control. 0.1 ml of each tube implanted in the media nutrient agar. Media incubated for 24 hours, then *Enterococcus faecalis* bacterial colonies that grow in media calculated using the CFU. **Results.** There no colony growth of *enterococcus faecalis* in both root canal medicaments. There are significant differences in inhibition zone of 2% chlorhexidine and 1% povidone iodine ($p < 0.05$). **Conclusion.** Both of root canal medicaments can kill *enterococcus faecalis*, but chlorhexidine 2% was more capable inhibit *Enterococcus faecalis*.

Key words: root canal medicament, povidone iodine, chlorhexidine, *enterococcus faecalis*

Korespondensi (Correspondence): Nathania Astria; Mahasiswa Kedokteran Gigi, Departemen Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga. Jln. Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: nathania.astria@hotmail.com

PENDAHULUAN

Perawatan endodontik atau disebut juga perawatan saluran akar adalah perawatan untuk menghilangkan infeksi pada pulpa gigi dan melindungi pulpa dari invasi mikroba.¹ Perawatan endodontik mempunyai tiga tahap dasar yang disebut dengan *endodontic triad* yang terdiri dari preparasi biomekanikal, irigasi dan desinfeksi, dan obturasi. Tujuan dari perawatan endodontik adalah mengeliminasi bakteri dari saluran akar sehingga tidak terjadi infeksi ulang. Bakteri dan produknya adalah faktor etiologi utama lesi

periapikal dan kegagalan pengisian saluran akar.² Dalam perawatan, walaupun telah dilakukan preparasi mekanikal, masih terdapat bagian dinding saluran akar yang terselimuti debris atau *smear layer* yang mengandung bakteri.³ Menurut Shahani dan Reddy, untuk mencegah terjadinya infeksi ulang pada saluran akar dan meningkatkan keberhasilan perawatan adalah dengan menggunakan medikamen saluran akar.⁴

Calcium hydroxide dan *sodium hypochlorite* adalah bahan yang sering digunakan sebagai medikamen saluran akar. Tetapi kedua

bahan ini tidak sempurna mengeliminasi mikroorganisme dari sistem saluran akar⁵ dan *calcium hydroxide* hampir tidak berpengaruh pada *E. faecalis*.⁶ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *E. faecalis* dan *C. albicans* paling sering resisten terhadap larutan irigasi dan *dressing* yang digunakan pada perawatan endodontik. Kedua mikroorganisme ini yang paling banyak ditemukan pada periodontitis apikal.⁵

Chlorhexidine adalah kationik bisguanide sintesis yang mempunyai spektrum antimikroba yang luas terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram.⁶ *Chlorhexidine* dapat mengurangi atau menghambat masuknya bakteri ke dalam sistem saluran akar.⁷ *Chlorhexidine* 2% mempunyai aktivitas residual antimikroba yang lebih besar pada saluran akar yang terinfeksi mikroba.⁸

Povidone iodine merupakan kompleks *polyvinyl pyrrolidone* dan *iodine* yang larut dalam air, serta mempunyai sifat antimikroba spektrum luas yang efektif terhadap organisme gram positif dan negatif serta jamur dan virus. Hasil dari penelitian sebelumnya menunjukkan 1% *povidone iodine* mempunyai zona hambat yang signifikan ($P < 0.01$) terhadap bakteri campur pada saluran akar ketika digunakan untuk irigasi saluran akar dibandingkan 2.5% *hydrogen peroxide* dan 2% *sodium hypochlorite*.⁴ Dalam penelitian toksisitas *povidone iodine* terhadap kornea kelinci, Jian *et al* menyatakan konsentrasi *povidone iodine* hingga 1% tidak mempunyai efek yang signifikan terhadap proteoglikan dan DNA sintesis kondrosit setelah diinkubasi selama 24 jam. Inkubasi dengan 5% *povidone iodine*, sel tidak dapat pulih. *Povidone iodine* dengan konsentrasi yang rendah ($< 1\%$) dan waktu inkubasi yang singkat (< 30 menit) tidak merusak sel kondrosit.⁹ Aplikasi *povidone iodine* berdasarkan kerja antimikroba yang cepat (*onset of action*) terhadap berbagai mikroorganisme, kecenderungan adanya stain pada dentin lebih rendah dibandingkan antiseptik yang mengandung *iodine* lainnya, memiliki sifat toksisitas yang rendah, dan dapat penetrasi ke tubulus dentine.^{5,10}

Lingkungan di saluran akar merupakan tempat yang baik bagi perkembangan bakteri anaerob.² Dalam ilmu endodontik, bakteri *E. faecalis* diklasifikasikan sebagai salah satu organisme patogen yang berhubungan dengan kegagalan perawatan saluran akar dan periodontitis apikal.¹¹ Bakteri *E. faecalis* bersifat anaerob fakultatif dan dapat bertahan hidup di lingkungan yang sangat ekstrim yaitu pada pH

basa (9.6) dan dapat tumbuh pada suhu antara 10°C sampai 45°C.¹² *E. faecalis* menginvasi tubulus dentin dan mampu bertahan dalam waktu yang lama tanpa nutrisi sehingga untuk menghilangkan *E. faecalis* dari sistem saluran akar sulit.¹³

Shahani dan Reddy membandingkan substantivitas antimikroba 2% *chlorhexidine gluconate*, 1% *povidone iodine*, 2.5% *hydrogen peroxide* dan 2% *sodium hypochlorite* pada bakteri campur saluran akar. Bahan antimikroba diirigasikan pada saluran akar, kemudian setelah 6 jam, 12 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam, *paperpoint* diletakan pada saluran akar selama 2 menit dan kemudian diletakan pada media *salivarius-bacitracin streptomycin* (MSBS) *agar plate*. Zona hambat dihitung setelah diinkubasi selama 48 jam. Zona hambat pada pengumpulan sampel setelah 72 jam pada 2% *chlorhexidine gluconate* adalah 1.9 mm, 1% *povidone iodine* 1.25 mm, 2.5% *hydrogen peroxide* 0 mm dan 2% *sodium hypochlorite* 0.1 mm.⁴

Berdasarkan penelitian yang telah ada dan uraian sebelumnya maka dilakukan penelitian mengenai daya bunuh dan daya hambat antimikroba *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% sebagai medikamen saluran akar terhadap bakteri *E. faecalis* sehingga mengurangi terjadinya kegagalan perawatan saluran akar. Penulisan ini bertujuan untuk menguraikan dan menjelaskan daya bunuh dan daya hambat *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% sebagai medikamen saluran akar terhadap bakteri *E. faecalis*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan bentuk penelitian eksperimental laboratoris, dengan rancangan *the post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga pada bulan September-Oktober 2015. Sampel dalam penelitian ini yaitu stok bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Besar sampel diperoleh dengan menggunakan rumus Federer, yaitu sebanyak 9 sampel. Penelitian dimulai dengan melakukan persiapan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan menyuspensikan dalam media BHIB sampai kekeruhan setara dengan standar 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Penentuan daya bunuh dari *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*

dilakukan dengan persiapan tabung reaksi sebanyak 4 tabung. Sebanyak 0,05 ml suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan 0,5 Mc Farland ditanam dalam tabung yang berisi 5 ml BHIB. *Chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% sebanyak 1 ml masing-masing pada tabung 1 dan 2. Tabung nomor 3 sebagai kontrol positif diisi dengan 0,05 ml suspensi bakteri dan media BHIB tanpa penambahan medikamen saluran akar dan tabung nomor 4 sebagai kontrol negatif berisi media BHIB tanpa penambahan bakteri *Enterococcus faecalis* maupun medikamen saluran akar. Penentuan daya hambat *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan dengan metode difusi dengan memasukan dan meratakan kultur dalam media BHIB pada media *nutrient agar* pada *petridish*. *Paper disk* diteteskan masing-masing 10 mikroliter medikamen saluran akar kemudian dimasukan dalam kultur pada media *nutrient agar*. Sediaan masing-masing dilakukan pengulangan 9 kali, kemudian seluruh tabung reaksi diinkubasi dalam inkubator secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam.

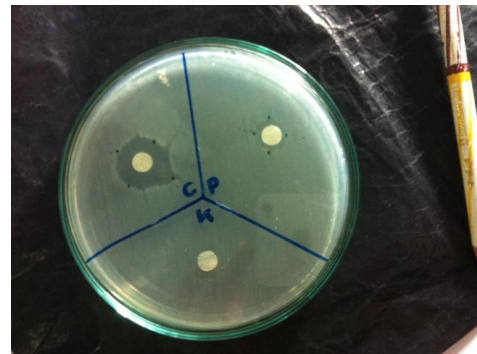
Pembacaan hasil dari daya bunuh *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media *nutrient agar* secara manual dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol positif, dan dinyatakan dalam CFU/ml, sedangkan hasil daya hambat dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk pada media *nutrient agar* dan dihitung dalam satuan mm. Daya bunuh adalah yang menunjukkan kematian bakteri *Enterococcus faecalis* sebesar 99,9% dibandingkan dengan

kontrol positif. Uji analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji normalitas *Kolmogorov Smirnov Test*, uji homogenitas tes *Levene* dan uji parametrik *Independent Sample T Test*.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok 1 (*chlorhexidine* 2%) dan kelompok 2 (*povidone iodine* 1%) tidak terdapat koloni bakteri *Enterococcus faecalis* yang tumbuh. Kelompok 1 mempunyai rata-rata zona hambatan sebesar 17.2738 mm dan zona hambatan kelompok 2 sebesar 11.4488 mm.

Gambar1. Zona hambat bakteri *Enterococcus faecalis* yang terbentuk dari pemberian medikamen saluran akar



Keterangan: (C) *Chlorhexidine* 2%, (P) *Povidone iodine* 1%, (K) Kontrol positif

Gambar2. Hasil subkultur tiap tabung pada media *nutrient agar*



Keterangan: (C) *Chlorhexidine* 2%, (P) *Povidone iodine* 1%, (+) Kontrol positif, (-) Kontrol negatif

Tabel 1 Nilai besar sampel, rata-rata, dan standar deviasi *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% (zona hambat dalam mm)

Kelompok	N	\bar{x}	SD
1	9	17.2738	1.00635
2	9	11.4488	0.40403

Kontrol	9	-	-
---------	---	---	---

Tabel 2 Nilai besar sampel, rata-rata, dan standar deviasi *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% (jumlah koloni dalam CFU)

Kelompok	N	\bar{x}	SD
1	9	0	0
2	9	0	0
Kontrol +	9	37.22	5.517648
Kontrol -	9	0	0

Keterangan: Kelompok 1 = *Chlorhexidine* 2%, kelompok 2 = *Povidone Iodine* 1%. N = Jumlah sampel kelompok, \bar{x} = Diameter rata-rata zona hambatan / rata-rata CFU masing-masing sampel, SD = Standar deviasi

Pada tabel diketahui bahwa hasil uji distribusi data dengan menggunakan uji statistik *Kolmogorov Smirnov* pada semua kelompok 1 dan 2 mempunyai $p > 0.5$ sehingga menunjukkan bahwa kelompok 1 dan 2 mempunyai distribusi data yang normal. Sedangkan untuk hasil uji homogenitas varians dengan menggunakan uji statistik *Levene* mempunyai nilai $p < 0.5$, hal ini menunjukkan bahwa kedua kelompok tersebut mempunyai varians yang tidak homogen. Selanjutnya dilakukan uji analisis varians menggunakan *independent T-test* karena hanya membandingkan dua kelompok data. Dari perhitungan statistik dengan uji *independent T-test* diperoleh $p < 0.5$, hal ini menunjukkan bahwa hasil antara kelompok bahan yang diuji mempunyai perbedaannya signifikan.

PEMBAHASAN

E. faecalis merupakan bakteri utama penyebab kegagalan perawatan saluran akar karena kemampuannya untuk bertahan hidup di pH yang basa (9.6) dan tahan terhadap garam

empedu, deterjen, logam berat, etanol, azida dan pengeringan.^{12,14} *E. faecalis* dapat menginvasi tubulus dentin dengan berikatan dengan tubulus dentin, mampu bertahan dalam waktu yang lama tanpa nutrisi dengan menggunakan serum sebagai sumber gizi, *E. faecalis* juga mampu mengubah respon host dan menekan aktivitas limfosit, mempunyai substansi agregasi, lipoteichoic acid, gelatinase, hialuronidase dan cytolysin (hemolisin).¹³ Mikroorganisme *E. faecalis* sering resisten terhadap beberapa larutan irigasi dan dressing yang digunakan pada perawatan endodontik seperti kalsium hidroksida dengan mempertahankan pH hemostasis, oleh karena itu diperlukan penggunaan bahan medikamen saluran akar untuk mengeliminasi bakteri *E faecalis*.^{5,11,15}

Pada penelitian ini digunakan medikamen saluran akar *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% keduanya merupakan medikamen saluran akar berspektrum luas, penggunaannya dalam bidang kesehatan juga luas, dan mudah didapat. Penelitian dilakukan dengan cara metode difusi agar untuk menentukan zonaambat dengan satuan millimeter. Metode difusi agar untuk menentukan aktivitas antimikroba. Kerjanya dengan mengamati daerah yang bening, yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar. Daya bunuh ditentukan dengan menggunakan media nutrient agar yang kemudian jumlah koloni bakteri *E. faecalis* dihitung dan diinterpretasikan menggunakan CFU. Pada penelitian ini, didapatkan hasil bahwa kedua bahan yang digunakan yaitu *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media nutrient agar. Tetapi terdapat perbedaan hasil diantara kedua bahan medikamen saluran akar ini yaitu rata-rata zonaambat pada medikamen saluran akar *chlorhexidine* 2% (17.27 mm) lebih besar dibandingkan *povidone iodine* 1% (11.45 mm), hasil ini didukung dengan analisis statistik yang menunjukkan *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% mempunyai perbedaan yang signifikan dalam menghambat bakteri *E. faecalis* pada media (*independent t-test* : $p < 0.5$).

Mekanisme *chlorhexidine* sebagai antimikrobia adalah berinteraksi dengan fosfolipid dan lipopolisakarida pada sel membran bakteri dan memasuki sel melalui mekanisme transport aktif atau pasif. Interaksi muatan positif molekul *chlorhexidine* dengan gugus fosfat

bermuatan negatif pada dinding sel mikroba, mengubah keseimbangan osmotik sel. Perubahan keseimbangan osmotik sel pada bakteri dapat mengganggu pertumbuhan bakteri. Hal ini meningkatkan permeabilitas dinding sel, sehingga molekul chlorhexidine dapat masuk ke dalam bakteri. Kerusakan membran diikuti oleh kebocoran unsur intraseluler seperti adenosin trifosfat dan asam nukleat. Akibatnya, sitoplasma bakteri menjadi menggumpal dan kemudian sel bakteri lisis.⁶

Mekanisme kerja antimikrobal iodine yaitu iodine yang aktif bereaksi dalam reaksi elektrofilik dengan enzim respiratory chain serta dengan asam amino pada protein membran sel bakteri. Akibatnya, struktur tersier yang diperlukan untuk menjaga respiratory chain rusak.¹⁰ Respiratory chain adalah jalur metabolisme terjadinya transpor elektron dalam respirasi seluler. Hal ini menciptakan gradien proton elektrokimia yang mendorong sintesis ATP. Dengan terganggunya sintesis ATP, pertumbuhan bakteri dapat terhambat. Kerusakan tersebut mempengaruhi struktur dan fungsi enzim dan protein sel bakteri sehingga merusak fungsi sel bakteri. Reaksi ini menyebabkan kematian yang cepat pada mikroba dan mencegah perkembangan resistensi bakteri.¹⁶

Perbedaan besar daya hambat dari chlorhexidine 2% dan povidone iodine 1% terdapat pada panjang rantai alkil, kereaktifan, dan sifat substantivitas. Chlorhexidine dengan formula molekul C₂₂H₃₀Cl₂N₁₀ dan povidone iodine dengan formula molekul C₆H₉I₂NO menunjukkan rantai alkil chlorhexidine lebih panjang dari povidone iodine, panjang rantai alkil mengakibatkan aktivitas antimikrobal yang lebih tinggi. Rantai panjang memiliki daerah aktif yang lebih untuk adsorpsi dengan dinding sel bakteri dan membran sitoplasma.¹⁷ Povidone iodine mengandung molekul Iodine mempunyai kereaktifannya lebih rendah dibandingkan chlorine yang terdapat pada chlorhexidine. Semakin tinggi keelektronegatifan semakin elemen cenderung menarik elektron. Secara umum keelektronegatifan cenderung naik dari kiri ke kanan dan dari bawah ke atas pada tabel periodik. Pada hal ini, chlorine (Cl) letaknya lebih di atas dari iodine (I) pada tabel periodik (Khumar et al, 2011). Efek antibakteri atau substantivitas chlorhexidine lebih panjang dibandingkan povidone iodine (Shahani & Reddy, 2011). Substantivitas povidone iodine hanya sekitar 60 menit dan chlorhexidine selama 48 jam, pada

penelitian lain mengatakan chlorhexidine mempunyai substantivitas selama 1 minggu pada dentin.^{18,19} Hal ini disebabkan karena chlorhexidine melepas zat aktif secara perlahan menyebabkan aktivitas antibakteri yang panjang, hal ini disebut sebagai substantivitas.²⁰

Chlorhexidine 2% maupun povidone iodine 1% adalah antimikrobal yang memiliki kemampuan membunuh bakteri *E. faecalis* yang merupakan bakteri yang paling resisten dan merupakan salah satu penyebab dari kegagalan perawatan saluran akar. Povidone iodine 1% walaupun penggunaannya masih jarang dan mempunyai daya hambat lebih rendah dari chlorhexidine 2% dapat memberikan inovasi baru sebagai bahan alternatif medikamen saluran akar.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa *chlorhexidine* 2% dan *povidone iodine* 1% dapat membunuh bakteri *Enterococcus faecalis*. Tetapi *chlorhexidine* 2% mempunyai daya hambat yang lebih besar dibandingkan *povidone iodine* 1% terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cohen S, Hargreaves K.M. Pathways of the Pulp. Edisi 9. Elsevier; 2006. h. 16
2. Attia D.A., Farah A.M., Afifi I.K., Darag A.M. Antimicrobial effect of different intracanal medications on various microorganisms. Tanta Dental Journal 2015; 12 (1): 41-47.
3. Tarigan R. Perawatan Pulpa Gigi (Endodonti). Edisi 9. Jakarta: EGC;2006. h. 105,111, 127-128
4. Shahani M N & Reddy S. Comparison of antimicrobial substantivity of root canal Irrigants in instrumented root canals up to 72 h: an in vitro study. J Indian Soc Pedod Prev Dent 2011. 29 (1); 28-33.
5. Bartanovsky E, Keinan D, Moshonov J, & Solomonov M. The effect of iodine-containing materials on the bonding strength of AH 26®. Endodontic practice 2011. 29 (1).
6. Kandaswamy D. & Venkateshbabu N. (2010). Root canal irrigants. Journal of Conservative Dentistry 2010. 13 (4); 256-264.
7. María T.Arias., Carmen M., Rodríguez M.P., Escobar E, Márcia F.A., & Baca P. Antimicrobial activity and enterococcus faecalis biofilm formation on chlorhexidine varnishes. Medicina Oral Patologia Oral Cirugia Bucal 2012. 17 (4); 705-709.

8. Ferraz C.C.R., Gomes B. P. S. A., Zaia A.A., Teixeira F.B., Souza-Filho F. J. Comparative Study of the Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine Gel, Chlorhexidine Solution and Sodium Hypochlorite as Endodontic Irrigants. *Braz Dent J* 2007. 18 (4); 294-298
9. Kapsar et al. Cutan Ocul Toxicol. The toxic effect of different concentrations of povidone iodine on the rabbit's corne 2006. 28 (3); 119-124.
10. Kumar S., Babu R.P., Jagadish R.G., Uttam A. (2011). Povidone Iodine-Revisited. *Indian Journal of Dental Advancements*. 3 (3).
11. Wang Q., Zhang C., Chu C., & Zhu X. (2012). Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International Journal of Oral Science*. 4 (1), p19-23.
12. Stuart C.H., Schwartz S.A., Beeson T.J., & Christopher B. Owatz C.B. (2006). *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *JOE*. 32 (2), p93.
13. Dammaschke T., Jung N., Harks I., & Schafer E. (2013). The effect of different root canal medicaments on the elimination of *Enterococcus faecalis* ex vivo. *European Journal of Dentistry*. 7 (4), p442-448.
14. Hegde V (2005). *Enterococcus faecalis*: clinical significance and treatment considerations. *Endontology*. 21(2), p48-54
15. Bhardwaj SB. (2013). Role of *Enterococci faecalis* in failure of Endodontic treatment. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 2 (8), p272-277.
16. Murad et al. (2012). Antimicrobial activity of sodium hypochlorite, povidone iodine, chlorhexidine and MTAD® against *Enterococcus faecalis* biofilm on human dentin matrix in vitro. *RSBO*. 9 (2), p143-150.
17. Kenaway, El-Refaie; S. D. Worley; Roy Broughton (May 2007). "The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State of the Art Review". *BioMacromolecules* (American Chemical Society) 8 (5), p1359–1384.
18. Bathla Shalu. *Periodontics Revisited*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2011. h. 284
19. Hibbard J. Analysis comparing the antimicrobial activity and safety of current antiseptics: a review. *Journal of Infusion Nursing* 2005. 28(3); 194-207.
20. Mohammadi, Z. & P. V. Abbott. The Properties and Applications of chlorhexidine in Endodontics. *International Endodontic Journal* 2009. 42(4); 288- 302.