
EFEK KITOSAN BLANGKAS BERMOLEKUL TINGGI DENGAN PELARUT GLISERIN SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN *DRESSING* SALURAN AKAR TERHADAP *Candida albicans*

(EFFECT OF HIGH MOLECULE CHITOSAN BLANGKAS WITH GLYCERIN AS
ALTERNATIVE OF ROOT CANAL *DRESSING* TO *Candida albicans*)

Trimurni Abidin, Tika Ikke Ivanti

Departemen Konservasi
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara
Jl. Alumni no. 2 Kampus USU Medan
Telp. 061 8216131, Fax. 061 8213421

Abstract

Candida albicans is one of the fungal resistances and the mostly found in endodontic infections. The existence of this fungi is able to make colonization or a good adherence on the dentin and to form biofilm in dentinal walls. The use of *dressing* root canal recommended to eliminate the microorganism and Chitosan blangkas had been chosen as an alternative *dressing* which originate from natural, biocompatible, characteristic of antibacteri and antifungi similiar with non-biologic material. This study was aimed to know the effect of high molecule chitosan blangkas with glycerin use *Agar Diffusion Method*. Paper disk (\varnothing 6 mm) soaked by solution of high molecule chitosan blangkas with glycerin for 60 minute then put in *Potato Dextrose Agar* media inoculated by *Candida albicans* and observed after the incubation for 24 hours. In conclusion, the high molecule chitosan blangkas in each concentration tested showed the high antifungal effect. The antifungal effect would increase in high concentration. MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) of high molecule chitosan blangkas with glycerin was 0,006%.

Key words: high molecule chitosan blangkas, *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Mikroba merupakan penyebab penyakit pulpa dan jaringan periradikuler yang ditemukan pada saluran akar terinfeksi berupa bakteri, *spirocheta* dan jamur. Jamur merupakan mikroflora normal yang terdapat di dalam rongga mulut, tetapi akan menimbulkan penyakit apabila terdapat faktor predisposisi lokal atau sistemik yang menyebabkan infeksi.¹ Sel ragi jamur ditemukan 5-20% di saluran akar yang terinfeksi dan sel ragi *Candida albicans* adalah jenis yang paling sering diisolasi dari saluran akar yang telah dirawat dengan atau tanpa adanya lesi periapikal.^{1,2} *Candida albicans* merupakan jenis yang paling virulent dalam penelitian eksperimental yang telah dilakukan dan faktor virulensi yang menyebabkan patogenitas *Candida albicans* antara lain perlekatanannya, pembentukan hifa, tigmotropism, sekresi protease dan fenomena *phenotypic switching*.²

Keberhasilan perawatan endodontik secara langsung dipengaruhi oleh kemampuan untuk mengeliminasi mikroorganisme dan produknya dari sistem saluran akar serta menciptakan lingkungan yang tidak memungkinkan bagi organisme untuk bertahan hidup.^{2,4} Irigasi dan preparasi biomekanikal tidak dapat mengeliminasi seluruh mikroorganisme dalam saluran akar. Dengan demikian, penggunaan *dressing* saluran akar direkomendasikan untuk perawatan infeksi saluran akar khususnya dengan lesi periapikal.⁵

Bahan *dressing* yang digunakan selama ini yakni bahan yang berbasis fenol, seperti *formocresol*, *camphorated monoparachlorophenol (CMCP)*, *metacresyl acetate*, *eugenol* dan *thymol*. Bahan-bahan ini memiliki daya hambat terhadap bakteri namun efeknya hanya beberapa waktu saja dan tidak direkomendasikan karena dapat menimbulkan nekrosis dan peradangan.^{6,7} Bahan *dressing* yang paling

umum dan standar yang digunakan saat ini adalah kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Namun kalsium hidroksida memiliki kelemahan, di antaranya kekuatan kompresif rendah yang dapat berpengaruh pada kestabilan kalsium hidroksida terhadap cairan di dalam saluran akar sehingga dapat melarutkan bahan *dressing*.⁸

Perkembangan material kedokteran gigi yang mengacu pada pemakaian bahan alami merupakan salah satu alternatif menghilangkan mikroorganisme dari saluran akar. Saat ini telah dikembangkan kitosan blangkas sebagai alternatif bahan *dressing* yang berasal dari alam, kompatibel terhadap jaringan, namun tetap memiliki sifat antibakteri yang sama dengan bahan non-biologi. Kitosan ditemukan oleh Rouget pada tahun 1859 dan merupakan biopolimer polisakarida hasil dari proses diasetilasi kitin yang berasal dari ekstrak kulit hewan laut seperti udang, rajungan, kepiting. Kitosan juga ditemukan pada dinding sel jamur jenis Zycomycetes serta kulit serangga. Kitosan banyak digunakan karena berbagai sifat seperti biokompatibilitas dan biodegradasi yang baik serta tidak bersifat toksik.⁹⁻¹²

Kitosan blangkas (*Limulus polyphemus*) merupakan hasil diasetilasi kitin yang diperoleh dari cangkang blangkas dengan berat molekul 893.000 Mv.¹⁰ Penelitian Banurea dan Trimurni menunjukkan bubuk kitosan blangkas bermolekul tinggi tanpa tambahan pelarut bereaksi positif sebagai antibakteri terhadap *Fusobacterium nucleatum*.¹³ Penelitian Fania dan Trimurni membandingkan efektifitas kitosan blangkas bermolekul tinggi yang diaplikasikan dengan pelarut gliserin dan VCO (*Virgin Coconut Oil*) menunjukkan bahwa hanya kitosan blangkas pada konsentrasi 1% dan 0,5% dengan pelarut gliserin yang memiliki daya hambat terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum*.¹⁴ Allan dan Hadwiger menemukan bahwa larutan 1% kitosan dalam 1% asam asetat dapat menghambat pertumbuhan *Candida tropicalis*. Penelitian Ramisz *et al* menggunakan larutan yang sama menunjukkan bahwa larutan tersebut juga dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.¹⁵

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek kitosan blangkas bermolekul tinggi yang diaplikasikan dengan pelarut gliserin terhadap *Candida albicans* yang diharapkan nantinya akan menjadi salah satu alternatif bahan *dressing* saluran akar.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Persiapan bahan coba kitosan blangkas bermolekul tinggi adalah sebagai berikut: penelitian ini menggunakan bubuk kitosan blangkas berasal

dari cangkang blangkas yang diperoleh melalui proses deasetilasi kitin dengan menggunakan larutan alkali (NaOH). Proses dilanjutkan secara dua tahap yaitu proses deproteinasi dengan pemberian NaOH 2M untuk mengurangi protein dan proses demineralisasi dengan pemberian HCL 2 M untuk menghilangkan kandungan mineral CaCO_3 . Hasilnya, didapatkan bubuk kitosan blangkas dengan derajat diasetilasi dan berat molekul yang tinggi yakni 84,20% dan 893.000 Mv.¹⁰ Pembuatan suspensi bahan coba dilakukan dengan mencampurkan bubuk kitosan blangkas dengan asam asetat 1% lalu ditambahkan bahan pelarut gliserin 100%. Konsentrasi yang digunakan adalah 0,25%, 0,5%, 1%.

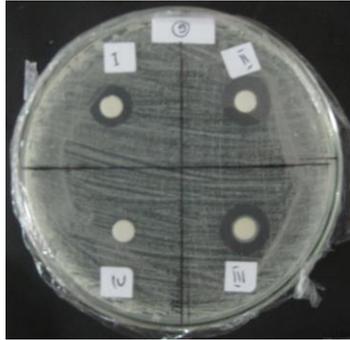
Konsentrasi awal bahan coba sebesar 1%, 0,5% dan 0,25% ditentukan berdasarkan penelitian terdahulu. Ramisz menunjukkan bahwa larutan 1% kitosan dalam 1% asam asetat dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.¹⁵ Penelitian lainnya yakni Fania dan Trimurni membuktikan bahwa hanya kitosan blangkas pada konsentrasi 1% dan 0,5% dengan pelarut gliserin yang memiliki daya hambat terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum*.¹⁴ Asam asetat digunakan karena sifat kitosan yang hanya dapat larut dalam asam encer seperti asam asetat, asam formiat dan asam sitrat.^{12,13} Tujuan penggunaan pelarut gliserin adalah untuk mempermudah aplikasi kitosan blangkas yang nantinya akan digunakan sebagai pengembangan bahan *dressing* saluran akar. Pelarut gliserin ini tidak memiliki efek antibakteri dan antifungal, hal ini dibuktikan pada penelitian Gomes *et al.*, yang menyatakan bahwa pelarut *aqueous* dan *viscous* yang digunakan pada penelitiannya tidak memberikan efek antibakteri, salah satunya adalah gliserin.¹⁶

Selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat kitosan blangkas bermolekul tinggi dengan pelarut gliserin terhadap *Candida albicans* di Laboratorium Biologi FMIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan. *Candida albicans* yang digunakan adalah *Candida albicans* yang telah diisolasi dari rongga mulut dan dibiakkan dengan media *Potato Dextrose Agar*. Pembuatan suspensi *Candida albicans* dengan mengambil 2-3 ose koloni, dimasukkan ke dalam NaCl 0,9% dan disetarakan dengan standar MC Farland 1×10^8 CFU/ ml. Suspensi diambil dengan menggunakan kapas lidi dan dibuat goresan penuh pada media *Potato Dextrose Agar*. Uji efek antifungal dilakukan dengan metode difusi agar di mana paper disk (\varnothing 6 mm) yang telah direndam bahan coba dengan konsentrasi berbeda berkontak langsung dengan media yang telah diinokulasi oleh *Candida albicans*, kemudian diukur zona bening yang terbentuk dengan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam. Zona bening menunjukkan

daya hambat yang dihasilkan dari bahan coba terhadap *Candida albicans*. Dalam penelitian ini, digunakan suspensi. Dilakukan penentuan nilai MIC dengan menurunkan konsentrasi awal bahan coba.

HASIL

Hasil pengujian antifungal menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,25%; 0,5%; 1% terdapat zona bening disekitar disk yang telah direndam bahan coba (Gambar 1).

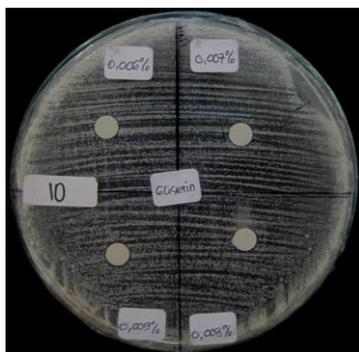


Gambar 1. Hasil percobaan setelah 24 Jam. Terdapat zona bening disekitar disk yang telah direndam bahan coba dengan konsentrasi I: 0,25%; II: 0,5%; III: 1% dan IV: Gliserin

Tabel 1. Rerata diameter zona hambat setelah 24 jam berdasarkan konsentrasi Kitosan blankas

| Rerata diameter Zona Hambat (mm) pada Konsentrasi Kitosan blankas | | | Gliserin (Kontrol -) |
|---|-------|-------|----------------------|
| 0,25% | 0,5% | 1% | |
| 12.85 | 13.15 | 13.25 | 6 |

Nilai MIC didapat dengan menurunkan konsentrasi awal sampai didapat konsentrasi minimal yang dapat menghambat *Candida albicans*. Konsentrasi yang didapat adalah 0,006% (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil percobaan setelah 24 jam : Konsentrasi minimal pada 0,006%

PEMBAHASAN

Penelitian mengenai efek antifungal kitosan blankas bermolekul tinggi dengan pelarut gliserin terhadap *Candida albicans* adalah untuk membuktikan bahwa kitosan blankas bermolekul tinggi yang diaplikasikan dengan pelarut gliserin memiliki daya hambat terhadap *Candida albicans* jika digunakan sebagai pengembangan bahan *dressing* saluran akar. Selain itu, penelitian ini juga untuk mengetahui nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) yakni konsentrasi minimal larutan kitosan blankas bermolekul tinggi dengan pelarut gliserin yang mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, yang ditunjukkan oleh zona bening yang terbentuk disekitar disk setelah diinkubasi selama 24 jam.

Hasil uji konsentrasi awal setelah 24 jam menunjukkan zona hambat paling besar terdapat pada konsentrasi 1% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 13,25 mm kemudian 0,5% sebesar 13,15 mm dan 0,25% sebesar 12,85 mm, yang berarti bahwa ketiga konsentrasi tersebut efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Pada konsentrasi awal ini, tidak ditemukan pertumbuhan *Candida albicans* pada zona hambat yang berarti bahwa kitosan pada konsentrasi 1%; 0,5% dan 0,25% bersifat fungisidal. Kemudian untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), konsentrasi larutan kitosan blankas dengan pelarut gliserin diturunkan sehingga diperoleh nilai MIC larutan kitosan blankas dengan pelarut gliserin pada konsentrasi 0,006%. Nilai MIC yang sangat rendah menunjukkan bahwa kitosan blankas bermolekul tinggi dengan pelarut gliserin sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Hal ini juga terlihat dalam penelitian Ramisz *et al.* yang menunjukkan $0,6 \text{ mg/cm}^3$ sebagai nilai MIC kitosan terhadap *Candida albicans* dan merupakan nilai MIC paling rendah dibandingkan dengan bakteri dan jamur lain yang diuji.¹⁵

Menurut Liu *et al.* aktifitas antimikroba kitosan meningkat sejalan dengan semakin tingginya derajat deasetilasi, karena akan semakin banyak jumlah gugus amino (NH_3^+) yang dimilikinya.¹² Kitosan yang dipakai pada penelitian ini adalah kitosan yang diperoleh dari cangkang blankas yang mempunyai derajat deasetilasi 84,20% dengan berat molekul 893000 Mv.¹⁰ Mekanisme antibakteri kitosan adalah adanya muatan kation gugus amino (NH_3^+) yang berikatan dengan komponen anion seperti asam N-asetilmuramik, asam sialik dan asam neuraminik pada permukaan sel dan menekan pertumbuhan bakteri dengan menghalangi pertukaran medium, peralihan ion pengkelat dan menghambat enzim.¹⁵

Sebagai kesimpulan, larutan kitosan blankas ber-

molekul tinggi dengan pelarut gliserin memiliki efek antifungal terhadap *Candida albicans*, semakin tinggi konsentrasi semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Nilai MIC dari larutan kitosan blangkas bermolekul tinggi dengan pelarut gliserin adalah 0,006%.

Daftar Pustaka

1. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endodon* 2000; 26(12): 695-98.
2. Waltimo TMT, Sen BH, Meurman JH, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Yeast in apical periodontitis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(2): 128-37.
3. Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TMT, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endodont J* 2000; 33: 126-31.
4. Ashraf H, Samiee M, Eslami G, Hosseini MRG. Presence of *Candida albicans* in root canal system of teeth requiring endodontic retreatment with and without periapical lesions. *Iranian Endo J* 2007; 2: 24-8.
5. Nirmala V. Effects of irrigation solutions and Calcium hydroxide dressing on root canal treatments of periapical lesions *Maj. Ked. Gigi.* 2005; 39: 28-31.
6. Walton RE, Torabinejad M. Prinsip dan praktik ilmu endodonsia. Alih bahasa: Narlan Sumawiranata, Lilian Juwono. Jakarta: EGC, 2008: 325.
7. Kudiyirickal MG, Ivancakova. Antimicrobial agents used in endodontic treatment. *Acta Medica* 2008; 51(1): 3-12.
8. Leswari MI. Peranan Kalsium hidroksida sebagai bahan pelindung pulpa gigi. *M.I.Kedokt. Gigi FKG Usakti* 1997; 12(34): 45-50.
9. Raafat D, Bargaen K, Haas A, Sahl HG. Chitosan as an antibacterial copound: insights into its mode of action. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74(12): 3764-73.
10. Trimurni A, Harry A, Wandania F. Laporan akhir penelitian Riset Pembinaan Iptek Kedokteran 2006/2007. Medan. Fakultas Kedokteran Gigi USU, 2006: 16-8, 27-30, 37-9.
11. Irawan B. Chitosan dan aplikasi klinisnya sebagai biomaterial. *Indonesian J Dent* 2005; 12(3): 146-51.
12. Sun-Ok FK. Physicochemical and functional properties of crawfish Chitosan as affected by different processing protocols. Thesis. Seoul: Seoul National University, 1991: 1-31.
13. Banurea FE, Trimurni A. Antibacterial Effect of high Moleculer Chitosan Blangkas (*Limulus Polyphemus*) against *Fusobacterium nucleatum*. *Arch Orofisial Sc Kelantan, Malaysia.* 2008; 3(2): 73.
14. Rahmy FM. Perbedaan daya hambat Kitosan blangkas (*Lymulus polyphemus*) bermolekul tinggi dengan pelarut gliserin Dan VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 (Penelitian IN-VITRO). <http://repository.usu.ac.id/xmlui/handle/123456789/8332>> (28 Desember 2009)
15. Ramisz AB, Pajak AW, Pilarczyk B, Ramisz A, Laurans L. Antibacterial and antifungal activity of Chitosan. *ISAH* 2005; 2: 406-8.
16. Gomes BPF, Ferraz CCR, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Invitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicle against selected microorganisms. *Braz Dent J* 2002; 13(3): 155-61.