

THE EFFECT OF USING 0.2% CHLORHEXIDINE IRRIGATING SOLUTION COMBINED WITH 3% HYDROGEN PEROXIDE TOWARD THE GROWTH AND MULTIPLICATION OF GINGIVAL SULCUS BACTERIA *In Vitro*

Uray Vega Visa Lacti¹, Arya Adiningrat²

¹Dentistry Student, Faculty of Medicine and Health Science UMY

²Oral Science Department, Faculty of Medicine and Health Science UMY

uray.vega@yahoo.com

ABSTRACT

Background: Anaerobe bacteria on Gingival Sulcus is the main etiology agent in initiation and development of periodontal disease such as gingivitis and periodontitis. Beside scaling and root planning, it could be used the additional treatment i.e giving irrigating solution such as chlorhexidine and hydrogen peroxide in gingival sulcus. The solutions had antimicrobial effect with different catch bond.

Purpose: This study aimed to find out the effect of chlorhexidine irrigating solution which was combined with hydrogen peroxide toward the growth and multiplication of gingival sulcus anaerobic bacteria.

Method: This research is conducted as an experimental laboratory in vitro. The sample of this study was the isolated bacteria which was from human gingival sulcus. The method used is disc diffusion on blood agar plate media followed by measuring the bacterial inhibition zone with sliding caliper. Irrigating solution tested was 0.2% chlorhexidine and 0.2% chlorhexidine combined with 3% hydrogen peroxide.

Result: The effect of both solutions towards gingival sulcus anaerobic bacteria. **Conclusion:** 0.2% chlorhexidine was more effective in inhibit the growth of gingival sulcus anaerobic bacteria

Keywords: The bacterial inhibition zone, gingival sulcus anaerobical bacteria, 0.2% chlorhexidine, 3% hydrogen peroxide

INTISARI

Latar belakang: Bakteri anaerob pada sulkus gingiva diakui sebagai agen etiologi utama dalam inisiasi dan perkembangan penyakit periodontal seperti gingivitis dan periodontitis. Selain scaling dan root planning, dapat dilakukan perawatan tambahan berupa pemberian larutan irigasi seperti *chlorhexidine* dan *hydrogen peroxide* pada sulkus gingiva. Kedua larutan tersebut memiliki efek antimikroba dengan titik tangkap yang berbeda.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh larutan irigasi *chlorhexidine* yang dikombinasi dengan *hydrogen peroxide* terhadap pertumbuhan biakan bakteri anaerob sulkus gingiva.

Metode: Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris secara *in vitro*. Sampel pada penelitian ini merupakan bakteri yang diisolasi langsung dari sulkus gingiva manusia. Metode yang digunakan adalah difusi cakram pada media *blood agar plate* yang dilanjutkan dengan mengukur zona hambat bakteri dengan *sliding caliper*. Larutan irigasi yang diujikan adalah *chlorhexidine* 0,2% dan *chlorhexidine* 0,2% yang dikombinasi dengan *hydrogen peroxide* 3%

Hasil: Terdapat pengaruh yang bermakna dari kedua larutan terhadap bakteri anaerob sulkus gingiva..

Kesimpulan: Larutan *chlorhexidine* 0,2% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri anaerob sulkus gingiva secara *in vitro*.

Kata Kunci: Zona hambat bakteri, bakteri anaerob sulkus gingiva, *chlorhexidine* 0,2%, *hydrogen peroxide* 3%

Pendahuluan

Penyakit periodontal yang paling sering terjadi adalah peradangan pada gingiva atau gingivitis dan periodontitis. Peradangan pada gingiva atau gingivitis jika tidak segera ditangani akan meluas jauh ke dalam jaringan dan menyebabkan hilangnya jaringan ikat pendukung yang dapat menyebabkan periodontitis⁸. Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit peradangan pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan mikroorganisme atau kelompok mikroorganisme spesifik tertentu, yang mengakibatkan destruktif progresif dari ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan pembentukan saku, resesi, atau keduanya².

Bakteri pada plak diakui sebagai agen etiologi utama dalam inisiasi dan perkembangan penyakit periodontal¹⁰. Sampel plak pada sulkus gingiva dari jaringan periodontal mengungkapkan bahwa persentase tertinggi merupakan bakteri anaerob gram negatif (Kumar dkk., 2012). Bakteri anaerob gram negatif yang terdiri dari *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah kelompok mikroorganisme penyebab penyakit periodontal¹.

Pada penyakit periodontitis perawatan yang dapat dilakukan adalah perawatan non bedah. *Scaling* adalah perawatan non bedah yang paling umum yang telah terbukti efektif dalam menghilangkan mikroorganisme yang hadir dalam plak gigi. Tapi, *scaling* memiliki beberapa keterbatasan, seperti kesulitan untuk mengakses poket gingiva yang dalam, dan kesulitan untuk menghilangkan mikroba patogen yang merambah ke tubulus dentin⁶. Hal tersebut menyebabkan penggunaan daya antibakteri dalam bentuk irigasi sebagai terapi tambahan untuk menurunkan mikroorganisme di gingiva sangat diperlukan³.

Chlorhexidine merupakan salah satu senyawa yang memiliki efek antimikroba⁷. Mekanisme kerja dari *chlorhexidine* adalah efektif untuk menghambat pertumbuhan maupun membunuh bakteri gram positif dan gram negatif, tergantung dari konsentrasi yang digunakan³. Senyawa lain yang dapat digunakan adalah *hydrogen peroxide*. Efek antimikroba *hydrogen peroxide* melibatkan radikal hidrotoksil. Radikal hidrotoksil yang merupakan oksidan kuat dapat bereaksi dengan mudah dengan makromolekul seperti lipida membran dan DNA sehingga dapat mengakibatkan kematian bakteri khususnya bakteri anaerob⁹.

Penelitian ini menguji pengaruh larutan chlorhexidine yang dikombinasi dengan hydrogen peroxide. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan larutan irigasi chlorhexidine 0,2% yang dikombinasi dengan hydrogen peroxide 3% terhadap pertumbuhan biakan bakteri anaerob sulkus gingiva.

Metode

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen laboratorium secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017-Februari 2018. Bakteri anaerob diperoleh dari isolasi pada sulkus gingiva manusia. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil

biakan bakteri dengan menggunakan ose lalu dimasukkan kedalam 10ml media Tryptose Broth lalu diinkubasi selama 24jam dengan suhu 37C.

Uji daya antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Suspensi bakteri yang telah memenuhi standar 10^8 CFU/ml diambil menggunakan mikro pipet, setelah itu dituangkan pada permukaan media *Blood agar* pada 6 buah cawan petri. Setelah itu tunggu \pm 24jam, selanjutnya pada tiap cawan petri dibagi menjadi 3 bagian yang nantinya akan diberikan kertas cakram. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam dalam larutan uji *chlorhexidine* 0,2% dikombinasi dengan *hydrogen peroxide* 3 %, *chlorhexidine* 0,2 % dan *aquades* steril sebagai kontrol negatif selama \pm 1jam dengan menggunakan cawan petri. Cawan petri yang sudah berisi bakteri uji dan kertas cakram dimasukkan ke dalam *anaerob jar*, dilanjutkan proses inkubasi selama \pm 24 jam pada suhu 37°C.

Data hasil penelitian mengenai pengaruh penggunaan larutan irigasi *chlorhexidine* 0,2% yang dikombinasi dengan *hydrogen peroxide* 3% terhadap pertumbuhan biakan bakteri anaerob sulkus gingiva uji statistik diawali dengan melakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah sampel yang diambil berasal dari sampel yang terdistribusi normal, selanjutnya dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*. Namun, jika data memiliki distribusi tidak normal maka perhitungan yang akan digunakan adalah *Kruskal – Wallis*.

Hasil

Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram untuk melihat zona radikal. Pengukuran zona radikal menggunakan sliding caliper dengan ketelitian 0,01mm dan dilakukan setelah 24 jam diinkubasi pada temperatur 37°C .

Tabel 1. Hasil pengukuran zona radikal *chlorhexidine* 0,2% yang dikombinasi dengan *hydrogen peroxide* 3%, *chlorhexidine* 0,2% dan *aquades* steril.

Hasil Pengukuran Zona Radikal			
DISK	<i>Chlorhexidine</i> 0,2% + <i>Hydrogen Peroxide</i> 3%	<i>Chlorhexidine</i> 0,2%	Kontrol Negatif (<i>Aquades</i> steril)
1	10,43mm	13,14mm	6,00mm
2	10,33mm	13,54mm	6,00mm
3	10,43mm	13,76mm	6,00mm
4	10,57mm	13,70mm	6,00mm
5	10,57mm	13,76mm	6,00mm
6	10,97mm	13,60mm	6,00mm
Rata-rata	10,55mm	13,58mm	6,00mm
Std. Dev	\pm 0,22mm	\pm 0,23mm	\pm 0mm

Pada Tabel 1 diperoleh data larutan tunggal (*chlorhexidine* 0,2%) memiliki rata-rata zona radikal lebih besar dibandingkan dengan larutan kombinasi

(*chlorhexidine* 0,2% + *hydrogen peroxide* 3%) terhadap biakan bakteri anaerob sulkus gingiva pada seluruh sampel biakan.

Tabel 2. Uji parametrik *One Way ANOVA*

	Sum Of Square	Df	Mean Square	F	Sig
Between Groups	174,821	2	87,411	2477,936	0,000
Within Groups	0,529	15	0,035		
Total	175,35	17			

Hasil uji komparatif parametrik digunakan untuk menilai ada tidaknya perbedaan rata-rata antar kelompok. Pada tabel diatas menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,000 ($p < 0,05$) sehingga terdapat pengaruh yang bermakna pada kelompok perlakuan

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh kedua larutan terhadap pertumbuhan biakan bakteri anaerob sulkus gingiva. Kemampuan sinergistik bahan tersebut pernah dilakukan secara klinis oleh Jhinga dkk (2013)⁴ yang mengungkapkan bahwa penggunaan larutan *chlorhexidine* dikombinasikan dengan *hydrogen peroxide*.

Penelitian yang kami lakukan menunjukkan bahwa rata-rata zona radikal pertumbuhan bakteri anaerob sulkus gingiva pasca perlakuan larutan tunggal lebih besar daripada perlakuan kombinasi. Perbedaan hasil penelitian klinis yang dilakukan sebelumnya dengan penelitian yang dilakukan peneliti secara in vitro dimungkinkan karena teknik pengaplikasian larutan pada penelitian terdahulu dilakukan dengan cara mengaplikasikan larutan *hydrogen peroxide* terlebih dahulu dan ditunggu selama selama 1 menit, setelah itu dilanjutkan dengan larutan *chlorhexidine*. Sedangkan pada penelitian yang kami lakukan pengaplikasian dilakukan dengan mengkombinasi, dimana larutan *chlorhexidine* dicampurkan dengan *hydrogen peroxide*.

Sehingga hal tersebut menyebabkan zona radikal bakteri anaerob sulkus gingiva pasca perlakuan larutan tunggal lebih besar daripada perlakuan kombinasi. Interaksi antara *chlorhexidine* dengan *hydrogen peroxide* jika diberikan dalam bentuk campuran dimungkinkan akan mengurangi daya penetrasi difusi pasif serta pencapaian *chlorhexidine* menuju dinding sel bakteri.

Hasil pembahasan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang bermakna dari kedua larutan terhadap bakteri anaerob sulkus gingiva. Tetapi, pemberian larutan kombinasi secara campuran tidak lebih baik daripada larutan tunggal.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan diatas, dapat disimpulkan bahwa:

1. Larutan tunggal dan larutan kombinasi memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri anaerob sulkus gingiva.
2. Penggunaan larutan tunggal menunjukkan hasil yang lebih optimal dibandingkan dengan larutan kombinasi secara campuran.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh larutan kombinasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan metode dilusi.

Daftar Pustaka

1. Hajishengallis, G., 2015, Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunology*. 15(1): 30–44.
2. Hinrich, J. E.& Novak, M. J., 2012, Classification of diseases and conditions affecting the periodontium. *In: Carranza FA ed. Carranza's clinical periodontology*. Ed. 11. Missouri: Elsevier (p.34-35&p.43-45).
3. Issac, A. V., Mathew, J. J., Ambooken, M., Kachappilly, A. J., Pk, A., Johny, T., Vk, Linith.& Samuel, A., 2015, Management of chronic periodontitis using subgingival irrigation of ozonized water: A clinical and microbiological study. *Journal of clinical mircobiology*.9(8): 29-33.
4. Jhingta, P., Bhardwaj, A., Sharma, D., Kumar, N., Bhardwaj, V. K., &Vaid, S. 2013. Effect of Hydrogen Peroxide Mouthwash as an Adjunct to Chlorhexidine on Stains and Plaque. *Journal Of Indian Society Of Periodontology*, 17(4), 449-453.
5. Kumar, A. J., Reddy, B. V. R.& Chava, V. K., 2014, Effect of chlorhexidine chip in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of natural science, biology, and medicine*.5(2): 268-272.
6. Nagarakanti, S., Gunupati, S., Chava, V. H. & Reddy, B. V. R. 2015. Effectiveness of subgingival irrigation as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review. *Journal Of Clinical & Diagnostic Research*9(7): 06-09.
7. Rashed, H T., 2016, Evaluation of the effect of hydrogen peroxide as a mouthwash in comparison with chlorhexidine in chronic periodontitis patients: A clinical study. *Journal Of International Society Of Preventive & Community Dentistry*. 6(3): 206-212.
8. Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Sesmich, J. G., Vernal, R., Hernandez, M.& Gamonal, J., 2015, Host response mechanisms in periodontal diseases.*Journal of oral science*. 23(3): 329-355.

- 9.** Shahriari, S., Mohammadi, Z., Yousefi, R., 2010, Effect of hydrogen peroxide on the antibacterial substantivity of chlorhexidine. *International journal of dentistry*. 2010; 2010: 946384.
- 10.** Teles, R., Teles, F. & Haffajee, A., 2013, Lesson learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontology 2000*. 62(1): 95-162.