

Effect of chitosan from shrimp shells (*Litopenaeus vannamei*) as an irrigation solution on root canal dentine microhardness

Pengaruh kitosan dari cangkang udang *Litopenaeus vannamei* terhadap kekerasan mikro dentin saluran akar

¹Indrya Kirana Mattulada, ¹Nur Asmah, ¹Syamsiah Syam, ²Muhammad Jayadi Abdi, ³Besse Nurfitriana

¹Bagian Konservasi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muslim Indonesia

²Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muslim Indonesia

³Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muslim Indonesia

Makassar, Indonesia

Corresponding author: Besse Nurfitriana, E-mail: nrftriana123@gmail.com

ABSTRACT

The most commonly used irrigation agent today is ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) 17%; to remove the inorganic components of the smear layer in the root canal. However, EDTA can cause demineralisation of dentin in the root canal wall. Shrimp shells (*Litopenaeus vannamei*) contain calcium, protein and chitin. Chitin can be utilised in the manufacture of chitosan which is non-toxic, biocompatible, biodegradable, antimicrobial. This article shows the effect of chitosan from shrimp shells as an irrigation solution on the microhardness of root canal dentin. Laboratory experimental study with pretest posttest with control group design using mandibular premolar teeth divided into 3 groups, each consisting of 9 teeth. Group 1 was irrigated with aquadest, group 2 with 0.2% chitosan and group 3 with 17% EDTA. The samples were tested using a Vicker hardness tester. Data were analysed using paired t-test and one-way Anova. The data obtained in the irrigation of distilled water solution did not decrease the microhardness of root canal dentin, while the chitosan solution irrigation treatment experienced a lower than EDTA 17% ($p < 0.05$). It was concluded that irrigation with 0.2% chitosan solution decreased the microhardness of root canal dentin which was lower than 17% EDTA solution.

Key words: irrigation solution, EDTA, shrimp (*Litopenaeus vannamei*), chitosan, microhardness

ABSTRAK

Bahan irigasi yang sering digunakan saat ini adalah *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) 17%; untuk membersihkan komponen inorganik *smear layer* di saluran akar gigi. Namun EDTA dapat menyebabkan demineralisasi dentin di dinding saluran akar gigi. Cangkang udang (*Litopenaeus vannamei*) mengandung kalsium, protein dan kitin. Kitin dapat dimanfaatkan dalam pembuatan kitosan yang tidak toksik, biokompatibel, biodegradabel, antimikroba. Artikel ini menunjukkan pengaruh kitosan dari cangkang udang sebagai larutan irigasi terhadap *microhardness* dentin saluran akar. Penelitian eksperimen laboratorium dengan desain *pretest posttest with control group* menggunakan gigi premolar rahang bawah yang dibedakan atas 3 kelompok; tiap kelompok terdiri atas 9 gigi. Kelompok 1 diirigasi dengan akuades, kelompok 2 diirigasi dengan kitosan 0,2% dan kelompok 3 diirigasi dengan EDTA 17%. Sampel diuji menggunakan *Vicker hardness tester*. Data dianalisis menggunakan *paired t-test* dan uji *one-way Anova*. Diperoleh data larutan akuades tidak menurunkan *microhardness* dentin saluran akar, sedangkan irigasi larutan kitosan mengalami penurunan *microhardness* yang lebih rendah daripada EDTA 17% ($p < 0,05$). Disimpulkan bahwa irigasi dengan larutan kitosan 0,2% menurunkan *microhardness* dentin saluran akar yang lebih rendah dari larutan EDTA 17%.

Kata kunci: larutan irigasi, EDTA, udang (*Litopenaeus vannamei*), kitosan, *microhardness*

Received: 10 February 2024

Accepted: 1 July 2024

Published: 1 December 2024

PENDAHULUAN

Perawatan saluran akar merupakan salah satu cara mempertahankan jaringan gigi di dalam mulut, untuk disinfeksi sistem saluran akar, yang membutuhkan eliminasi organisme mikro dan komponen mikroba dengan instrumentasi, irigasi, sterilisasi, dan obturasi saluran akar serta pencegahan infeksi ulang saluran akar.^{1,2} Salah satu tahap dalam perawatan saluran akar yang perlu diperhatikan adalah irigasi saluran akar yang merupakan kunci utama perawatan saluran akar. Berbagai bahan irigasi dapat membersihkan saluran akar dari debris organik, organisme mikro, sisa jaringan pulpa, *smear layer*, dan endotoksin, antara lain hidrogen peroksida (H_2O_2), sodium hipoklorit (NaOCl), *ethylene diamine tetra-acetic acid* (EDTA), klorheksidin, dan *mixture tetracycline isomer-acid-detergent* (MTAD).^{3,4} Bahan irigasi yang sering digunakan saat ini adalah EDTA 17%, digunakan untuk membersihkan komponen organik dan inorganik *smear layer* di saluran akar gigi. Namun EDTA bersifat toksik terhadap jaringan periapikal, dapat menyebabkan demineralisasi yang meluas dan menyebabkan perubahan sifat biomekanik lapisan dentin di dinding saluran akar gigi. Bahan EDTA juga dapat mengubah proporsi komponen organik dan anorganik di dentin yang berdampak mempengaruhi kekerasan dentin atau *microhardness*.⁵ Penu-

runan *microhardness* mengakibatkan terbentuk retakan pada dentin intertubular yang akan mengurangi resistensi dinding saluran akar dan meningkatkan risiko fraktur pada gigi yang telah dirawat endodontik.^{6,7}

Bahan irigasi NaOCl digunakan untuk menghilangkan debris dari saluran akar dengan kemampuan anti bakteri. Larutan irigasi NaOCl memiliki kemampuan melarutkan jaringan pulpa vital maupun nekrotik namun tidak menghilangkan *smear layer* di saluran akar. Penggunaan larutan irigasi NaOCl dengan konsentrasi tinggi memiliki toksisitas yang lebih besar dibandingkan konsentrasi yang rendah.^{5,6}

Karena kekurangan EDTA dan NaOCl sebagai larutan irigasi, maka diperlukan bahan irigasi alternatif yang dapat menghilangkan komponen organik dan anorganik dari *smear layer*, yang memiliki sifat antibakteri dan sifat agen pengkelat.

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki anekaragam biota laut. Indonesia merupakan salah satu penghasil udang terbesar di dunia. Cangkang udang mengandung kalsium, protein, dan kitin yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan kitosan yang dapat digunakan di bidang kesehatan sebagai bahan pengganti tulang dan gigi, efektif pada penyembuhan luka, sebagai agen antimikroba, dan antikolesterol.⁸ Ki-

tin merupakan mukopolisakarida yang berikatan dengan garam anorganik, seperti kalsium karbonat, protein dan lipid. Kitosan adalah deasetilasi kitin yang diperoleh secara alami dan merupakan polisakarida yang bersifat biokompatibel. Sifat utama kitosan, antara lain tidak toksik, biokompatibel, biodegradabel, antimikroba. Di bidang kedokteran gigi, kitosan dalam digunakan sebagai bahan *dressing* saluran akar, antibakterial, bahan penyembuh luka atau regenerasi tulang, serta untuk memperbaiki sifat bahan kedokteran gigi lainnya. Kitosan memiliki kemampuan khelasi sehingga mampu untuk menghilangkan *smear layer* dari permukaan dentin saluran akar.^{5,10,11}

Untuk memisahkan kitin dari kulit udang digunakan proses deproteinasi (pemisahan protein) dan demineralisasi (pemisahan mineral). Dengan proses deasetilasi, dari kitin diperoleh kitosan.⁹ Menurut penelitian Ratih, diketahui bahwa irigasi akhir menggunakan nanopartikel kitosan 0,2% memiliki efek yang sama terhadap penghilang *smear layer* dibandingkan EDTA 17%, namun kitosan 0,2% memiliki menurunkan *microhardness* dentin yang lebih sedikit dari EDTA 17%.¹² Melalui penelitian ini diketahui pengaruh kitosan dari cangkang udang (*L. vannamei*) sebagai larutan irigasi terhadap *microhardness* dentin saluran akar.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental laboratorium* dengan rancangan berupa *pre-test post-test with control group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmaseutik Fakultas Farmasi dan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muslim Indonesia, dan Laboratorium Mekanik Teknik Mesin Politeknik Negeri Makassar.

Sampel dibedakan atas kelompok I: irigasi larutan kitosan cangkang udang 0,2%, kelompok II irigasi larutan EDTA 17%, kelompok III irigasi larutan akuades sebagai kontrol; masing-masing 9 sampel menurut uji Federer. Cangkang udang sebanyak 1 kg dipisahkan dari dagingnya, dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan, dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama ± 3 hari sampai berwarna kecoklatan, dihaluskan menggunakan *blender*, kemudian diayak menggunakan saringan 100 *mesh*.

Deproteinasi dilakukan dengan cara mencampurkan bubuk kulit udang *vename* 100 g ke dalam NaOH 8% dengan perbandingan 1:6 (b/v) pada suhu 80°C selama satu jam. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring dan dicuci dengan akuades hingga pH netral, dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Demineralisasi ditujukan untuk menghilangkan kandungan mineral pada bubuk hasil deproteinasi. Bubuk hasil deproteinasi dicampur dengan HCl 1 N perbandingan 1:10 pada suhu 80°C selama 1 jam, kemudian disaring dengan kertas saring dan dicuci dengan akuades hingga

pH netral dan dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 24 jam sehingga diperoleh kitin.

Tahap deasetilasi atau penghilangan gugus asetil, dilakukan dengan cara mencampurkan kitin ke dalam larutan NaOH 50% dengan perbandingan 1:20 pada suhu 120°C selama satu jam. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam sebagai kitosan. Larutan kitosan 0,2% dibuat dengan melarutkan 0,2 g serbuk kitosan dalam 100 mL asetat 1%, diaduk hingga homogen dengan bantuan *vertex*.

Sampel sebanyak 27 gigi premolar dipotong secara horisontal pada *cemento-enamel junction* untuk memisahkan akar dan mahkota, hingga ruang pulpa dan saluran akar gigi terbuka. Akar gigi diukur dari daerah apikal ke arah koronal sepanjang 12 mm dan diberi tanda, kemudian gigi dipotong pada tanda tersebut sehingga semua sampel memiliki panjang yang sama yaitu, 12 mm. Gigi premolar yang sudah dipersiapkan, ditanam pada resin blok secara vertikal. Masing-masing resin blok ditanam sebanyak 9 gigi, sehingga diperoleh 3 kelompok persegi panjang resin blok untuk 3 jenis perlakuan.

Sampel dipreparasi dengan teknik *crown down* menggunakan protaper hingga file F3. Irigasi saluran akar dilakukan setiap pergantian file menggunakan 1 mL NaOCl 2,5%, saluran akar dibilas dengan akuades, dikeringkan dengan *paper point*. Pengujian dilakukan dengan beban 100 g selama 10 detik pada 3 titik di sekeliling saluran akar dengan jarak 1 mm dari dinding saluran akar. Sampel diatur letaknya di tengah lensa objektif dan difokuskan dengan cara memutar pegangan di kanan alat, searah dengan jarum jam. Setelah lensa okuler terlihat gambar dalam keadaan fokus sampel dipindah dengan menggeser ke arah kanan sehingga tepat berada di bawah *diamond penetrator*, lalu tombol penetrator ditekan. Tunggu hingga lampu indikator padam, kemudian putar indikator dengan lensa, fokuskan diagonal jejak maka alat uji menampilkan diagonal jejak d1 dan d2. Panjang diagonal langsung diukur menggunakan mikrometer yang terdapat pada lensa okuler. Hasil pengukuran panjang diagonal kemudian diratakan. *Vickers hardness number* diperoleh menggunakan rumus $H_v = 1,8544 \cdot P/d^2$ (H_v adalah angka kekerasan Vicker (MPa), P adalah beban (N), dan D adalah diagonal rata (mm)). Setelah nilai kekerasan awal diperoleh, dilanjutkan dengan perendaman ketiga kelompok sampel selama 3 menit.

HASIL

Data diuji dengan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 27; uji normalitas data dengan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Kemudian dilanjutkan dengan *paired t-test* dan uji

Tabel 1 Uji normalitas dan uji homogenitas

Perlakuan	n	Mean \pm Std. Deviasi	Uji normalitas (<i>p-value</i>)	Uji Homogenitas
Kitosan 0,2%	Pre test	96,60 \pm 5,04	0,11	0,94
	Post test	95,28 \pm 5,18	0,04	
EDTA 17%	Pre test	99,89 \pm 5,88	0,58	0,84
	Post test	96,87 \pm 5,97	0,63	
Akuades	Pre test	93,11 \pm 1,85	0,25	1,00
	Post test	93,11 \pm 1,85	0,25	

Ket: Uji normalitas (*Shapiro Wilk*) normal ($p > 0,05$), uji homogen (*Levene test*) homogen ($p > 0,05$)

one-way Anova. Analisis selanjutnya menggunakan uji *post-hoc least significant difference (LSD)*

Berdasarkan tabel 1 sesuai uji normalitas *microhardness* dentin saluran akar pada kelompok larutan kitosan 0,2% menunjukkan bahwa data sebelum perlakuan berdistribusi normal sedangkan data sesudah perlakuan tidak berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas perlakuan larutan kitosan 0,2% menunjukkan data homogen. Hasil uji *microhardness* dentin saluran akar gigi dengan perlakuan larutan EDTA 17% menunjukkan bahwa data sebelum dan sesudah perlakuan berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas menunjukkan data homogen. Hasil uji *microhardness* dentin saluran akar gigi dengan perlakuan akuades sebelum dan sesudah perlakuan data berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas menunjukkan data homogen.

Selanjutnya dilakukan uji perbedaan sebelum dan sesudah irrigasi setiap perlakuan yang diberikan. Pada kelompok kitosan menggunakan uji *Wilcoxon* karena terdapat data yang tidak normal, sedangkan untuk kelompok EDTA 17% dan akuades digunakan uji *t-paired* karena dapat berdistribusi normal.

Tabel 2 Uji perbedaan sebelum dan sesudah irrigasi

Perlakuan	Mean± Std. Deviasi	p-value
Kitosan 0,2%	Pre test 96,60±5,04 Post test 95,28±5,18	0,008*
EDTA 17%	Pre test 99,89±5,88 Post test 96,87±5,97	0,000**
Aq kuades	Pre test 93,11±1,85 Post test 93,11±1,85	-

Ket: Uji *Wilcoxon** signifikan ($p < 0,05$), uji *t-paired*** signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa hasil uji *microhardness* dentin saluran akar pada gigi dengan perlakuan larutan kitosan 0,2% diperoleh penurunan *microhardness* sebesar 1,32 dan terdapat perbedaan signifikan *microhardness* gigi sebelum dan sesudah diirigasi larutan kitosan 0,2%, nilai p sebesar 0,008 ($p < 0,05$). Hasil uji *microhardness* dentin saluran akar pada gigi dengan perlakuan larutan EDTA 17% diperoleh penurunan *microhardness* sebesar 3,02 dan terdapat perbedaan signifikan *microhardness* gigi sebelum dan sesudah diirigasi larutan EDTA 17%, nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hasil uji *microhardness* dentin saluran akar pada gigi dengan perlakuan akuades diperoleh tidak terdapat perbedaan sebelum dan sesudah irrigasi akuades.

Uji one-way Anova dilakukan untuk mengetahui ada atau tidak perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan. Berdasarkan tabel 3 tampak ada selisih sebelum dan sesudah pada larutan kitosan 0,2%, larutan EDTA 17% tetapi tidak ada perubahan *microhardness* pada perlakuan akuades. Hasil uji one-way Anova menunjukkan nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang berarti ada pengaruh perlakuan terhadap *microhardness*-nya.

Tabel 3 Perbedaan rerata *microhardness* dentin saluran akar sebelum dan sesudah irrigasi

Perlakuan	n	Mean± Std.Deviasi	p-value
Larutan Kitosan 0,2%	9	1,32±0,51	0,000*
Larutan EDTA 17%	9	3,02±1,14	
Larutan Aquades	9	0,00±0,00	

uji one-way Anova, *signifikan ($p < 0,05$)

Uji *post hoc* untuk mengetahui suatu kelompok memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok lainnya; diperoleh selisih rerata nilai larutan kitosan terhadap akuades dengan nilai p 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam tingkat *microhardness* dentin saluran akar.

Selain itu, diperoleh selisih rerata nilai antara akuades dengan larutan EDTA 17% dengan nilai $p=0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan tingkat *microhardness* dentin saluran akar.

Selisih rerata nilai antara larutan kitosan dan larutan EDTA 17% (nilai $p < 0,05$), menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan tingkat *microhardness* dentin saluran akar. Maka disimpulkan bahwa irrigasi dengan larutan kitosan 0,2% mengalami penurunan yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok larutan EDTA 17%.

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian ini didapatkan perbedaan *microhardness* dentin saluran akar sebelum dan setelah perlakuan. Berubahnya nilai *microhardness* dentin menunjukkan perubahan mineral organik dan anorganik dalam jaringan struktur dentin. Irigasi larutan kitosan 0,2% menyebabkan penurunan *microhardness* karena sifat kitosan sebagai agen pengkhelet yang mendemineralisasi permukaan dentin. Bahan irrigasi yang digunakan untuk membersihkan *smear layer* dapat menimbulkan efek samping seperti erosi dentin saluran akar yang memengaruhi penurunan *microhardness*-nya. *Microhardness* dentin adalah kekerasan mikro dentin saluran akar yang bergantung pada jumlah matriks yang terkalsifikasi. Penurunan *microhardness* menyebabkan kehilangan mineral pada jaringan keras gigi karena sensitif terhadap komposisi dan perubahan struktur pada gigi. *Microhardness* yang ditimbulkan oleh bahan irrigasi tergantung pada jenis, kadar dan waktu pengaplikasian larutan.¹² Perubahan rasio perbandingan kalsium dan fosfor dapat mengubah komponen organik dan anorganik yang dapat menurunkan *microhardness*, meningkatkan permeabilitas dan kelarutan dentin saluran akar. Perubahan *microhardness* dapat menjadi bukti tidak langsung hilangnya atau penambahan mineral pada jaringan keras gigi. Penurunan *microhardness* dapat memengaruhi kemampuan adesi dan kedekatan sealer pada dinding dentin saluran akar.¹³

Kelompok irrigasi dengan larutan akuades tidak mengalami penurunan *microhardness* dentin saluran akar Hal ini dikarenakan akuades sifatnya sebagai pembilas

Tabel 4 Uji *post hoc*

Perlakuan	Mean	Larutan Kitosan	Larutan EDTA	Akuades
Larutan Kitosan 0,2%	1,322	-	0,005*	0,000*
Larutan EDTA 17%	3,016	0,005*	-	0,000*
Larutan aquades	0,000	0,000*	0,000*	-

Uji *post hoc** signifikan ($p < 0,05$)

dan tidak memiliki efek pengkhelet dan tidak mampu untuk menghilangkan *smear layer*.¹⁴

Irigasi dengan larutan kitosan 0,2% menurunkan *microhardness* dentin saluran akar. Menurut penelitian oleh Perochena dkk, dilaporkan bahwa kitosan bersifat khelasi yang sangat baik sehingga dapat melarutkan bagian anorganik dari *smear layer*. Selain itu, kitosan juga memiliki efek antimikroba terhadap bakteri serta jamur.⁵⁹ Namun efek khelat bergantung pada reaksi dengan ion kalsium dari dentin, dapat mengubah rasio kalsium-fosfor.¹⁴

Irigasi dengan EDTA 17% menurunkan *microhardness* dentin saluran akar. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Baldasso dkk, irigasi gigi dengan EDTA 17%, mengurangi *microhardness* dentin secara signifikan karena dapat menembus dentin lebih dalam dan mengganggu penetrasi sealer selama prosedur pengisian saluran akar.¹³

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa EDTA 17% dan kitosan 0,2% berpengaruh terhadap *microhardness* dentin saluran akar. Larutan irigasi EDTA menurunkan *microhardness* yang lebih besar dibandingkan dengan larutan kitosan 0,2%. Irigasi dengan agen khelasi dapat menghilangkan ion kalsium dari saluran akar. Agen khelasi tidak hanya melarutkan matriks kalsium hidroksiapatit dari dentin, karena kolagen terbuka dan terjadi penurunan *microhardness*. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Abdelkafy yang mengatakan bahwa kitosan mengubah rasio perbandingan kalsium dan fosfor dentin akar hingga tingkat yang lebih rendah dari EDTA 17% ketika digunakan sebagai larutan irigasi akhir. Kelompok EDTA 17% menunjukkan rerata rasio perbandingan kalsium dan fosfor terendah, menunjukkan bahwa kelompok tersebut memiliki efek khelat kuat untuk melarutkan kom-

ponen anorganik pada *smear layer* dan juga memengaruhi matriks kalsium hidroksiapatit pada dentin saluran akar. Namun pada kelompok kitosan menunjukkan rerata perbandingan kalsium dan fosfor tertinggi, berarti larutan ini merupakan agen pengkhelet lemah yang demineralisasi dan menghilangkan *smear layer*.¹⁴

Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Elgendy, menyatakan bahwa irigasi yang diuji mengalami penurunan signifikan *microhardness* dentin saluran akar namun efek dari kitosan 0,2 lebih berpengaruh daripada EDTA 17%. Hal ini mungkin terjadi dikaitkan dengan perbedaan metodologi dan pengujian. Penelitian tersebut menggunakan gigi premolar bawah yang diberi perlakuan selama 5 menit dengan 2 mL larutan irigasi, kekerasan diukur dengan *Vickers diamond indenter*.¹⁶

Kitosan memiliki perubahan *microhardness* yang lebih kecil dibandingkan dengan EDTA. Hal ini membuktikan bahwa kitosan adalah agen khelasi yang lemah yang lebih sedikit mendemineralisasi permukaan dentin daripada EDTA. Interaksi kovalen kitosan dengan kolagen dentin menyebabkan remineralisasi dentin yang mengalami demineralisasi. Hal tersebut terjadi karena adanya gugus fosfat yang dapat menarik ion kalsium sehingga menghasilkan permukaan yang memuaskan untuk nukleasi kristal, sehingga mengakibatkan terjadinya lapisan kalsium-fosfat. Oleh karena itu, kemampuan remineralisasi kitosan dapat menjelaskan mengapa kitosan memiliki kekerasan mikro yang lebih tinggi dan kekasaran permukaan yang lebih rendah dibandingkan dengan EDTA.^{12,17}

Disimpulkan bahwa larutan irigasi dari kitosan cangkang udang (*L.vannamei*) menyebabkan penurunan *microhardness* yang lebih kecil dibandingkan dengan larutan irigasi EDTA 17%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wedagama DM, Hartini AAA, Ernawati L. Single visit endodontic treatment on left maxillary first molar with reciprocal system. *Interdental J Kedokt Gigi*. 2019;15(1):30.
2. Dede M, Timpel J, Kirsch J, Hannig C, Weber MT. MTAD: is it the right solution? An overview. *Dtsch Zahnärztl Zeitschrift Int* 2019;1(4):144.
3. Widyastuti NH, Sukmasari IR. Perbedaan teknik irigasi saluran akar (konvensional, agitasi manual, ultrasonik) terhadap kebersihan saluran akar. *Univ Res Colloquium* 2020;165-6.
4. Permatasari R, Safitri A. Peran EDTA sebagai bahan irigasi pada perawatan saluran akar. *M-Derj Fkg Updm* 2022;2:24-8.
5. Deviyanti S. Potensi larutan kitosan 0,2% sebagai alternatif bahan irigasi dalam perawatan saluran akar gigi. *J Ilm Teknol Kedokt Gigi* 2018;14(1):7.
6. Gupta N, Singh N. Evaluation and comparison of smear layer removal and dentin microhardness using maleic acid, EDTA and MTAD as irrigant. *J Dent Indones* 2018;25(2):95-6.
7. Alinda S, Margono A, Asrianti D. Effect of grape seed extract solution on the microhardness of the root canal dentin: an in vitro study. *Int J Appl Pharm* 2020;12(2):62-3.
8. Asmawati. Potensi cangkang udang (*L.vannamei*) sebagai bahan remineralisasi gigi. *Makassar Dent J* 2018;7(1):46.
9. Setiati R, Siregar S, Wahyuningrum D, Fathaddin MT. Potensi keberhasilan kulit udang sebagai bahan dasar polimer kitosan: studi literatur. *J Penelit Dan Karya Ilm Lemb Penelit Univ Trisakti* 2021;6(1):155-7.
10. Cicciù M, Fiorillo L, Cervino G. Chitosan use in dentistry: a systematic review of recent clinical studies. *Mar Drug* 2019;17:1.
11. Hartomo TB, Griselda FF. Pemanfaatan biomaterial kitosan dalam bidang bedah mulut. *B-Dent J* 2015;6(1):63.
12. Ratih DN, Enggardipta RA, Kartikaningtyas AT. The effect of chitosan nanoparticle as a final irrigation solution on the smear layer removal, micro-hardness and surface roughness of root canal dentin. *Open Dent J* 2020;14(1):19-26.
13. Baldasso FER, Roleto L, da Silva V, Morgental RD, Kopper PMP. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Braz Oral Res* 2017;31(40):3-6.
14. Permatasari R, Ekiyo E. Potensi kitosan sebagai bahan irigasi dalam pembersihan smear layer saluran akar. *Andalas Dent J* 2023;12:63-9.
15. Bakr DK, Saleem SS, Amin BK. Effect of sodium hypochlorite, chlorhexidin and EDTA on dentin microhardness. *Zanco J Med Sci* 2016;20(1):1175-8.
16. Abdelkafy H, Elsheikh HM, Kataia MM, Marzouk RM. Efficacy of using chitosan and chitosan nanoparticles as final irrigating solutions on smear layer removal and mineral content of intraradicular dentin. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2023;41:171-5.
17. Elgendy AA. The Effect of chitosan and propolis irrigation on root dentin microhardness. *Egypt Dent J* 2017;63(1):1069-75.
18. Gusyska A, Vasileva R, Dyulgerova EL, Gylbenkiyan ES. The effectiveness of a chitosan-citrate solution to remove the smear layer in root canal treatment-an in-vitro study. *Int J Sci Res* 2016;5(9):1169-73.