

Comparison of inhibition test of mouthwash containing chlorhexidine 0.12% and cetylpyridinium chloride 0.1% with povidone iodine 1% against *Porphyromonas gingivalis*

Perbandingan uji daya hambat obat kumur yang mengandung *chlorhexidine* 0,12% dan *cetylpyridinium chloride* 0,1% dengan *povidone iodine* 1% terhadap *Porphyromonas gingivalis*

¹Bryan Agung Sutanto, ²Henry Yonathan Mandalas, ³Vinna Kurniawati Sugiaman

¹Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University

²Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University

³Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Maranatha Christian University

Bandung, Indonesia

Corresponding author: Vinna Kurniawati Sugiaman, e-mail: vinnakurniawati@yahoo.co.id

ABSTRACT

Gram-negative anaerobic bacteria and microaerophilic bacteria found in the subgingival area are the cause of chronic periodontitis. The main bacteria causing chronic periodontitis is *Porphyromonas gingivalis*, which is present in 53.8% of cases. Mouthwash is a solution or liquid used to cleanse the mouth of plaque and mouth disease-causing organisms. This study was conducted to compare the inhibitory power of mouthwash containing CHX 0.12% and CPC 0.1% with povidone iodine 1% on *P. gingivalis*. The well diffusion test was conducted to see the most effective inhibition in inhibiting the growth of these bacteria by measuring the diameter of the inhibition zone of the clear zone formed. It was concluded that there was greater antibacterial inhibition of mouthwash containing CHX 0.12% and CPC 0.1% than mouthwash containing povidone iodine 1% in inhibiting the growth of *P. gingivalis*. **Key words:** chlorhexidine 0.12%, cetylpyridinium chloride 0.1%, povidone iodine 1%, *Porphyromonas gingivalis*, periodontitis

ABSTRAK

Bakteri anaerob gram negatif dan bakteri mikroaerofilik yang ditemukan di daerah subgingiva merupakan penyebab periodontitis kronis. Bakteri utama penyebab periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*, yang terdapat pada 53,8% kasus. Obat kumur adalah larutan atau cairan yang digunakan untuk membersihkan mulut dari plak dan organisme penyebab penyakit mulut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan daya hambat obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dengan *povidone iodine* 1% pada *P. gingivalis*. Uji difusi sumuran dilakukan untuk melihat daya hambat yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri ini dengan mengukur diameter zona hambat dari zona bening yang terbentuk. Disimpulkan bahwa terdapat daya hambat antibakteri yang lebih besar pada obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dibandingkan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.

Kata kunci: *chlorhexidine* 0,12%, *cetylpyridinium chloride* 0,1%, *povidone iodine* 1%, *Porphyromonas gingivalis*, periodontitis

Received: 10 January 2024

Accepted: 1 March 2024

Published: 1 August 2024

PENDAHULUAN

Salah satu organ sistem pencernaan di dalam rongga mulut yang penting adalah gigi yang berperan untuk mengunyah makanan yang akan diteruskan ke sistem pencernaan.¹ Apabila gigi mengalami gangguan, maka proses pencernaan makanan juga akan terganggu yang berdampak pada terganggunya aktivitas manusia. Hal ini juga akan berperan dalam penentuan status kesehatan seseorang.² Salah satu penyakit yang dapat mengenai gigi dan jaringan pendukungnya yaitu penyakit periodontal yang merupakan penyakit jaringan pendukung gigi yang dapat mengenai berbagai usia, baik dewasa ataupun anak-anak, baik laki-laki ataupun perempuan.³ Penyebab utama penyakit periodontal adalah kolonisasi bakteri yang menyebabkan akumulasi plak pada permukaan gigi.⁴ Ketidaktahuan masyarakat mengenai dampak buruk dari plak gigi menyebabkan rendahnya kesadaran masyarakat untuk menjaga kesehatan gigi dan mulut. Pengontrolan plak diperlukan sebagai salah satu upaya untuk memelihara kesehatan gigi dan mulut. Masyarakat Indonesia masih memiliki risiko yang tinggi untuk terkena penyakit periodontal seperti periodontitis.¹

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang bersifat anaerobik, gram negatif, non-motil, dan asakarolitik, paling sering dikaitkan dengan etiologi periodontitis.⁴ Organisme mikro ini terutama bertanggung jawab atas timbulnya, perkembangan, dan tingkat keparahan periodontitis kronis.³ Bakteri utama penyebab periodontitis kronis adalah *P. gingivalis*, yang juga menyebabkan penyakit periodontal terdapat pada 53.8% kasus periodontitis kro-

nis.⁴ *P. gingivalis* merupakan bakteri gram negatif anaerob yang berkoloni di rongga mulut dan biasanya banyak tumbuh dan berkembang pada daerah subgingiva.⁵ Bakteri anaerob gram negatif yaitu *P. gingivalis* menyebar ke jaringan mulut dan menyebabkan gingivitis.⁵

Obat kumur yang mengandung *chlorhexidine* (CHX) 0,12% dan *cetylpyridinium chloride* (CPC) 0,1% merupakan salah satu obat kumur yang berperan meredakan gingivitis, mengurangi pertumbuhan bakteri, virus, dan jamur, meredakan faringitis, meredakan ulcer, dan mencegah halitosis.⁶ CHX merupakan sejenis desinfektan dan antiseptik yang dapat membunuh dan mensterilkan bakteri gram positif dan gram negatif.⁷ CHX diperkirakan dapat digunakan sebagai obat kumur untuk mencegah penyakit periodontal,⁸ memperlambat pertumbuhan plak, dan mengurangi pembentukan plak. Sifat CHX itu sendiri yang bersifat bakterisid dan bakteriostatik terhadap berbagai bakteri, termasuk yang membentuk plak. Penggunaan CHX juga telah direkomendasikan oleh WHO dan *American Dental Association* (ADA).

Povidone iodine memiliki sifat antiseptik dan efektif melawan plak, gingivitis, dan bau mulut karena kandungannya yang bersifat antibakteri, antijamur, dan antivirus.⁹ Obat kumur yang mengandung *povidone iodine* merupakan salah satu obat kumur yang memiliki sifat antibakteri. Selain itu, obat kumur yang mengandung *povidone iodine* dapat merangsang metabolisme bakteri sedemikian rupa sehingga dapat meningkatkan multiplisitas bakteri dan mengurangi kematian bakteri. Selain itu, cairan ini dapat mengubah struktur membran sel bakteri dan

dapat menghambat perlekatan hidrogen yang pada akhirnya akan merusak sel bakteri. Antimikroba yang mengandung yodium mampu menstabilkan mekanisme kritis sel dengan mengikat nukleotida, asam amino, dan leusin.¹⁰ Penelitian itu dimaksudkan untuk menguji daya hambat obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dengan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan memberi perlakuan yang berbeda pada bakteri *P. gingivalis* yaitu obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dengan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1% dan kemudian diukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* pada masing-masing perlakuan. Sampel adalah bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277. Jumlah pengulangan minimal untuk setiap kelompok perlakuan, yaitu sebanyak sembilan kali pengulangan. *P. gingivalis* ditanam pada *medium blood agar plate* (BAP) dan diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam.

Medium dipanaskan hingga mendidih menggunakan *microwave* dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Koloni *P. gingivalis* yang telah tumbuh di BAP diinokulasikan ke dalam larutan bulyon, kemudian suspensi dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Kekekruhan larutan disamakan dengan larutan standar *McFarland* 0,5 untuk mendapatkan inokulum dengan jumlah bakteri sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Prosedur kultur bakteri dimulai dengan persiapan *medium* BAP, sebanyak 20 g BAP dilarutkan di dalam air dan dipanaskan hingga mendidih, kemudian diaduk hingga homogen.

Setelah itu, medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit; medium dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga mengeras. Suspensi bakteri diambil dengan *cotton swab* steril dan diaplikasikan ke permukaan BAP, kemudian cawan petri ditutup dan dibiarkan agar suspensi terserap ke dalam agar. Sebuah eksperimen dilakukan dengan menggunakan *cotton swab* steril yang dicelupkan ke dalam suspensi bakteri yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan larutan standar *McFarland* 0,5 sebelumnya. Swab tersebut kemudian diusapkan secara merata ke permukaan BAP dan dibiarkan selama 4-5 menit hingga suspensi tersebut terserap ke dalam agar pada suhu ruang 37°C.

Lubang sumuran dibuat pada lempeng agar darah yang telah disiapkan, dengan masing-masing lubang sumuran diberikan larutan obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1%, dengan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1%, sementara lubang su-

muran kontrol negatif diberikan akuades. Pembuatan lempeng agar uji dilakukan sebanyak 9 kali pengulangan dengan perhitungan menggunakan rumus Federer. Selanjutnya, lempeng agar tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter menggunakan rumus yang telah ditentukan.

HASIL

P. gingivalis dari Laboratorium Universitas Padjadjaran Bandung; sebelum penelitian, diidentifikasi dengan uji pewarnaan gram dan uji morfologi koloni. Bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277 diukur zona hambat dengan 3 perlakuan, yaitu obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1%, dengan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1%, beserta kontrol negatif akuades (Tabel 1).

Pada penelitian ini digunakan satu cawan petri berisi media agar darah yang telah dikultur bakteri pada setiap pengulangan. Pada cawan petri diberi perlakuan obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dengan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1%, dan kontrol negatif akuades yang diperkirakan akan menghasilkan zona hambat. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam pada inkubator. Pengukuran yang digunakan dalam penelitian ini adalah besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang diberi tiga perlakuan dan diukur menggunakan jangka sorong. Zona hambat merupakan zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran, pada zona ini tidak terdapat pertumbuhan bakteri (Gbr. 1).



Gambar 1 Diameter zona hambat CHX 0,12% dan CPC 0,1% dengan *Povidone Iodine* 1% terhadap *P. gingivalis*

Tabel 2 Klasifikasi zona hambat obat kumur

Obat kumur	Rerata diameter (mm)	Klasifikasi zona hambat
CHX 0,12% & CPC 0,1%	10,2	Kuat
<i>Povidone Iodine</i> 1%	2,27	Lemah

Dari hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut diinterpretasikan ke dalam kategori daya hambat yang dikembangkan oleh Davis dan Stout. Zona hambat kurang dari 5 mm termasuk ke dalam kategori lemah. Zona hambat 5-10 mm, termasuk ke dalam kategori sedang. Zona hambat 10-20 mm termasuk ke dalam kategori kuat. Zona hambat lebih dari 20 mm, termasuk ke dalam kategori sangat kuat (Tabel 2).

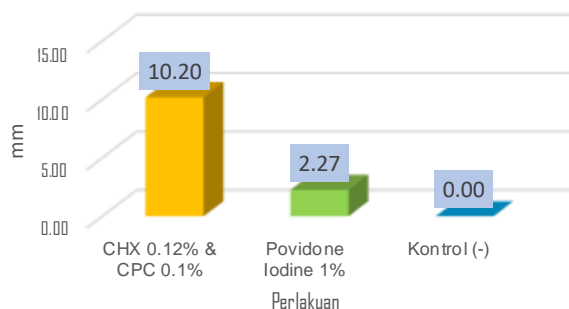
Berdasarkan tabel dan grafik di atas, didapatkan ha-

Tabel 1 Hasil pengukuran diameter zona hambat

No	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)									Rata-rata
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	Kontrol -	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0
2	CHX 0,12% & CPC 0,1%	10	10,4	10,2	10	10,6	10	10,4	10	10,2	10,2
3	<i>Povidone Iodine</i> 1%	2,0	2,4	2,6	2,2	2,0	2,4	2,2	2,4	2,2	2,27

sil pengukuran diameter zona hambat terbesar yaitu pada perlakuan dengan obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% sebesar 10,2 mm. Hasil pengukuran diameter zona hambat terbesar selanjutnya yaitu pada perlakuan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1% sebesar 2,27 mm. Sedangkan zona hambat terkecil dihasilkan oleh kontrol negatif akuades yaitu 0 mm (Gbr.2).

Diagram Rata-rata Zona Hambat Pada 3 Perlakuan



Gambar 2 Grafik rerata diameter zona hambat

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan uji *chi kuadrat*, diketahui bahwa signifikansi menunjukkan data berdistribusi normal karena hasil perhitungan uji normalitas menyatakan $p\text{-value} > 0,05$, maka dilakukan analisis statistik dengan uji *one-way Anova*, terlihat $p\text{-value} < 0,05$, artinya pengujian bersifat signifikan terlihat bahwa adanya perbedaan yang signifikan terhadap zona hambat dari ketiga perlakuan yang dilihat dari rerata zona hambatnya. Selanjutnya karena data homogen maka dilakukan uji lanjutan berupa uji *post hoc* menggunakan uji *t-test* untuk melihat kelompok perlakuan yang paling signifikan. Berdasarkan hasil uji *post hoc*, data tersebut menunjukkan $p\text{-value}$ yang berwarna menunjukkan sifat pengujian yang signifikan secara statistik, sedangkan $p\text{-value}$ yang tidak berwarna menunjukkan sifat yang non-signifikan. Untuk menentukan perlakuan yang terbaik, dilihat dari nilai reratanya; semakin besar maka semakin baik artinya pada perlakuan obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% adalah yang paling signifikan dengan nilai rerata daya hambatnya sebesar 10,2 mm.

Antibakteri CHX dapat menyebabkan kematian sel *P.gingivalis* dengan menimbulkan kebocoran sel dan koagulasi kandungan intraseluler sel bakteri *P.gingivalis*.¹¹ Selain itu, pada CHX mampu mencegah pembentukan pelikel dan dapat mengganggu stabilitas membran luar pada partikel bakteri *P.gingivalis* sehingga dapat menyebabkan lapisan luar dinding sel bakteri *P.gingivalis* mengalami kerusakan dan hilangnya berat molekul pada bakteri.¹²

Mekanisme antibakteri CPC yaitu dengan cara meningkatkan interaksi antibakteri ini dengan sel bakteri *P.gingivalis* yang menyebabkan kebocoran komponen sitoplasma akibat kerusakan membran sel bakteri. Hal ini juga menyebabkan gangguan metabolisme sel yang ak-

hirnya menyebabkan terjadinya kematian sel bakteri *P.gingivalis*.¹³

Mekanisme antibakteri *povidone iodine* utamanya sebagai antiseptik untuk mencegah infeksi pada luka bekerja dengan cara merusak sel kuman melalui mekanisme *povidone* membawa senyawa *iodine* bebas masuk menembus membran sel bakteri *P.gingivalis* yang secara perlahan-lahan dengan aktivitas menghambat metabolisme enzim bakteri *P.gingivalis* sehingga mengakibatkan terganggunya multiplikasi bakteri, sehingga mengakibatkan bakteri menjadi lemah.⁸

Berdasarkan penelitian ini, terbukti bahwa obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dengan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1% memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada media BAP yang telah diinokulasi bakteri *P.gingivalis*. Hasil menunjukkan bahwa obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1%. Hal ini disebabkan mekanisme kerja dari CHX yang dikombinasikan dengan CPC yang digunakan sebagai kontrol positif secara elektrostatis berikatan dengan permukaan bakteri yang bermuatan negatif dan merusak lapisan luar dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kematian sel bakteri *P.gingivalis* dengan menimbulkan kebocoran sel.¹⁴ Pada konsentrasi rendah (0,02-0,06%) memiliki efek bakteristatik, sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi (>0,1%) CHX dan CPC memberikan aksi bakterisidal dengan membentuk endapan ireversibel dengan adenosin trifosfat dan asam nukleat intraseluler setelah memasuki sitoplasma melalui membran sitoplasma yang rusak.¹⁵

Sedangkan mekanisme kerja pada *povidone iodine* berfokus pada berkurangnya enzim ATP-ase dan molekul *iodine* bebasnya akan dilepaskan secara perlahan-lahan masuk menembus membran sel kemudian menghambat pertumbuhan sel bakteri *P.gingivalis* sehingga mengganggu multiplikasi sel bakteri yang mengakibatkan bakteri *P.gingivalis* menjadi lemah.¹⁶ Aktivitas antibakteri *povidone iodine* terjadi karena kemampuannya dalam mengoksidasi secara kuat dari *iodine* bebas terhadap nukleotida, asam amino, dan juga lemak bebas tidak jenuh.¹⁷ Hal ini menyebabkan *povidone iodine* mampu merusak protein dan DNA bakteri *P.gingivalis*.¹⁷ Hasil penelitian ini membuktikan bahwa obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis* dibandingkan obat kumur yang mengandung *povidone iodine* 1%.

Disimpulkan daya hambat antibakteri lebih besar pada obat kumur yang mengandung CHX 0,12% dan CPC 0,1% dibandingkan yang mengandung *povidone iodine* 1% dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*.

Konflik kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Carranza FA, Newman MG, Takel HH, Klokkevold PR. Carranza's clinical periodontology, 12th Ed. Philadelphia: Elsevier 2015:144-5.
2. Samaranayake L. Essential Microbiology for Dentistry 5th edition. Edinburgh: Elsevier; 2018: 157-158.
3. Andriani I, Chairunnisa FA. Periodontitis kronis dan penatalaksanaan kasus dengan kuretase. *Insisiva Dent J* 2019; 8:25-30
4. Septiwiidiyati TR, Bachtiar EW. The role of Porphyromonas gingivalis virulence factors in periodontitis immunopathogenesis. *J Dentika Dental* 2020; 23(1):7-8.
5. Tedjasulaksana R. Metronidasol sebagai salah satu obat pilihan untuk periodontitis marginalis. *J Kesehatan Gigi* 2016; 4:19-23
6. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Nean and Carranza's clinical periodontology 13th ed. Ottawa: Saunders Elsevier; 2018: 100-50.
7. Challacombe SJ, Kirk-Bayley J, Sunkaraneni VS, Combes J. Povidone iodine. *Br Dent J* 2020; 228: 656-7.
8. Sinaredi BR, Pradopo S, Wibowo TB. Antibacterial effect of mouth washes containing chlorhexidine, povidone iodine, fluoride plus zinc on Strep. *Dent J (Majalah Kedokt Gigi)*; 2014; 47(4):211.
9. Haydari M, Bardakci AG, Koldslund OC, Aass AM, Sandvik L, Preus HR. Comparing the effect of 0.06%, 0.12% and 0.2% Chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in an experimental gingivitis model: a parallel group, double masked randomized clinical trial. *BMC Oral Health* 2017; 17(1):118.
10. Ferdina R, Busman, Retno AP. Use of povidone iodine gargle as a pre-procedural measures to reduce the risk of transmission of Covid-19. *Menara Ilmu* 2022; 16(2): 77-83.
11. Martínez I, Dios PP, Rodríguez M, Pérez, V, Cabrera A, Domínguez, A. Is povidone iodine mouthwash effective against SARS-CoV-2? First in vivo tests. *Oral Dis* 2022; 28(1), 908-11.
12. Costa M, Santana D, Santos BN, Cury P. Chlorhexidine mouthwash reduces the salivary viral load of SARS-CoV-2: a randomized clinical trial. *Oral Dis* 2021; 27: 1–9.
13. Hussain M, Stover CM, Dupont A. P. gingivalis in periodontal disease and atherosclerosis: Scenes of action for antimicrobial peptides and complement. *Front Immunol* 2015; 6(2):1–5.
14. Becker K, Brunello G, Scotti L, Drescher D, John G. Efficacy of 0.05% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash to eliminate living bacteria on in situ collected biofilms: an in vitro study. *Antibiotics* 2021; 10:730.
15. Fibriyanto E. Mouthwashes: a review on its efficacy in preventing dental caries. *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu* 2023; 5:91-6
16. Bonn E. Efficacy of a mouthwash containing CHX and CPC in SARS-CoV-2-positive patients: a randomized controlled clinical trial. *J Dent Res* 2023; 5(1):1-10
17. Muñoz-Basagoiti J, Perez-Zsolt D, León R, Blanc V, Raich-Regué D, Cano-Sarabia M, et al. Mouthwashes with CPC reduce the infectivity of SARS-CoV-2 variants in vitro. *J Dent Res* 2021; 100:1265-72