

The potential of advancing endodontic practice with chitosan: its role as a sea-derived natural irrigant

Potensi kemajuan praktik endodontik dengan chitosan: perannya sebagai irigan alami yang berasal dari laut

¹Tharisyah Amiharna Kayla, ²Nurul Annisa Rachman, ³Muhammad Akira Takashi Dharma^{1,2}Faculty of Dentistry, Hasanuddin University³Department of Dental Material, Faculty of Dentistry, Hasanuddin University

Makassar, Indonesia

Corresponding author, e-mail: ³muhakira@unhas.ac.id**ABSTRACT**

Chitosan is a cationic polyaminosaccharide that can be chemically modified and holds great potential in endodontic applications. Its biological and physico-chemical properties, such as cross-linking ability, antimicrobial activity, and metal ion-binding capacity, support its use as a root canal irrigant. In both standalone form and in combination with sodium hypochlorite and EDTA, chitosan has proven effective in removing the smear layer and inhibiting biofilm formation. This study aims to evaluate the effectiveness of chitosan as an alternative root canal irrigant in supporting the success of endodontic therapy. Many results indicate that chitosan shows promising potential as an irrigating agent due to its ability to combine chelating and antimicrobial effects without causing adverse effects on dentin structure. Therefore, chitosan deserves consideration as an alternative irrigant in modern endodontic practice.

Keywords: chitosan, endodontic irrigant, antimicrobial activity, chelating agent**ABSTRAK**

Kitosan merupakan poliaminosakarida kationik yang dapat dimodifikasi secara kimiawi dan memiliki potensi besar dalam aplikasi endodontik. Sifat biologis dan fisikokimianya, seperti kemampuan membentuk ikatan silang, aktivitas antimikroba, dan kapasitas mengikat ion logam, mendukung penggunaannya sebagai agen irigasi saluran akar. Dalam bentuk tunggal maupun kombinasi dengan natrium hipoklorit dan EDTA, kitosan efektif menghilangkan lapisan smear, menghambat pembentukan biofilm. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas kitosan sebagai agen irigasi saluran akar alternatif dalam mendukung keberhasilan terapi endodontik. Hasil menunjukkan bahwa kitosan memiliki potensi yang menjanjikan sebagai agen irigasi karena mampu menggabungkan efek khelasi dan antimikroba tanpa menimbulkan efek samping yang merusak struktur dentin. Oleh karena itu, kitosan layak dipertimbangkan sebagai alternatif bahan irigasi dalam praktik endodontik modern.

Kata kunci: kitosan, agen irigasi endodontik, aktivitas antimikroba, agen khelator

Received: 10 January 2025

Accepted: 5 October 2025

Published: 1 April 2026

PENDAHULUAN

Perawatan saluran akar (endodontik) bertujuan menghilangkan jaringan pulpa yang mengalami inflamasi atau infeksi, serta mengendalikan infeksi yang terjadi di dalam saluran akar.¹ Keberhasilan perawatan ini bergantung pada tiga fase utama, yaitu preparasi biomekanik, disinfeksi, dan obturasi saluran akar.² Pada tahap preparasi biomekanik, proses instrumentasi akan menghasilkan *smear layer*, yaitu lapisan amorf tidak beraturan, setebal 1-5 µm yang terdiri atas komponen organik dan anorganik.³ *Smear layer* dapat menjadi tempat berkembangnya bakteri dan menghambat penetrasi disinfektan serta adesi *sealer*, sehingga perlu dihilangkan untuk mendukung keberhasilan perawatan jangka panjang.⁴

Pembersihan saluran akar secara optimal memerlukan larutan irigasi yang mampu melarutkan komponen organik dan anorganik serta mencegah pembentukan *smear layer* selama proses instrumentasi.⁴ Irigasi ideal sebaiknya bersifat antibakteri spektrum luas, tidak toksik, mampu melarutkan jaringan pulpa nekrotik, dan mengatasi *smear layer*.⁵ Berbagai larutan telah dikembangkan, termasuk agen antimikroba, khelator, dan kombinasi dengan deterjen.⁵ Salah satu bahan yang paling umum digunakan adalah natrium hipoklorit (NaOCl) 2,5-5%, karena mampu melarutkan jaringan organik dan bersifat antibakteri, namun tidak efektif terhadap komponen anorganik *smear layer*. Untuk itu, EDTA digunakan sebagai agen khelasi pengikat ion kalsium, namun jika digunakan jangka panjang dapat menurunkan kekerasan mikro, meningkatkan kekasaran, dan menyebabkan erosi dentin.⁶ Selain itu, EDTA tidak memiliki aktivitas antibakteri.⁶

Keterbatasan tersebut mendorong pencarian irigasi alternatif yang ideal, dapat melarutkan kedua komponen *smear layer*, bersifat antimikroba, khelator, serta aman bagi struktur dentin. Dalam beberapa tahun terakhir, kitosan banyak digunakan dalam bidang kesehatan, termasuk endodonsia.⁶ Kitosan adalah polisakarida alami yang bersifat biokompatibel, *biodegradable*, bioadesif, tidak toksik, serta memiliki kemampuan khelasi dan aktivitas antibakteri. Bahan ini diperoleh dari deasetilasi kitin yang banyak ditemukan pada limbah kulit udang dan kepiting, membuatnya ramah lingkungan dan ekonomis.⁴⁻⁶

Sebagai produk berbasis sumber laut, kitosan mendukung ino-

vasi berkelanjutan dalam praktik kedokteran gigi modern. Penting dilakukan kajian pustaka mengenai efektivitas dan aplikasi klinis kitosan sebagai bahan irigasi alternatif dalam terapi endodontik sehingga dapat menjadi referensi bagi praktisi dalam memilih dan mengembangkan agen irigasi yang lebih efektif, aman, dan terjangkau, serta berkontribusi terhadap keberhasilan PSA secara menyeluruh.

TINJAUAN PUSTAKA**Sumber dan karakteristik kitosan**

Kitosan merupakan salah satu nanopeptida alami yang berasal dari hasil pemurnian kitin, yaitu komponen utama penyusun eksoskeleton moluska seperti siput, tiram, dan abalon, serta krustasea laut seperti kepiting dan udang.^{7,8} Kitin sendiri merupakan makromolekul yang tersusun atas unit D-glukosamin yang terbentuk secara berulang. Senyawa ini diperoleh melalui proses deasetilasi terhadap kitin, yang umumnya berasal dari limbah cangkang organisme laut.⁹

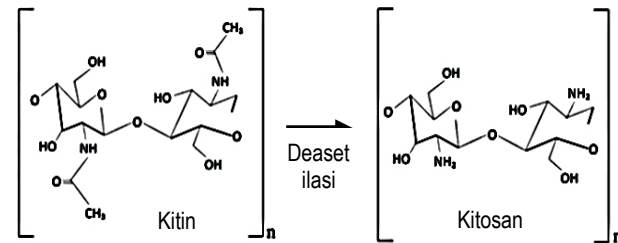
Dalam proses produksinya, cangkang dan eksoskeleton hewan laut tersebut terlebih dahulu mengalami deproteinasi untuk menghasilkan kitin yang tidak larut air. Selanjutnya, dengan menghilangkan gugus asetil, kitin dikonversi menjadi kitosan, yaitu bentuk larut dalam kondisi asam. Kitin merupakan polisakarida terbanyak kedua di alam setelah selulosa, dan berperan penting dalam pemberian kekuatan dan ketahanan struktur pada tubuh luar hewan laut tersebut.^{10,11}

Kitosan sebagai turunan dari kitin, dihasilkan melalui proses deasetilasi enzimatis, dan memiliki berbagai sifat fisikokimia (Tabel 1) yang mendukung aplikasinya di bidang kedokteran gigi. Kitosan dikenal sebagai serat alami yang tidak dapat dicerna, menyerupai selulosa, dan memiliki sifat hidrofilik, biokompatibel, serta alami.¹²

Tabel 1 Analisis kimia kitosan¹²

Karakteristik	Kitosan
Berat Molekul (Mw)	> 100 kDa
Nama Kimia	(1,4)-2-amino-2-deoksi-β-D-glukan
Rumus Empiris	(C ₆ H ₁₁ NO ₄) _n
Kelarutan dalam Air	Sedikit larut dalam air
Sumber	Turunan dari kitin
Enzim Pembentuk	Kitinase

Secara struktur, kitosan tersusun atas unit polimer glukosamin dan N-asetil glukosamin, yang berasal dari kitin (Gbr.1). Kombinasi dari berbagai sifat tersebut, terutama kemampuan antibakterinya yang luas, kapasitas mengikat ion (*chelating*) di lingkungan asam, serta kemampuannya merangsang remineralisasi dentin, menjadikan kitosan sebagai kandidat menjanjikan untuk digunakan dalam prosedur endodontik.^{13,14}



Gambar 1 Representasi reaksi skematik kitin menjadi kitosan¹⁴

Aktivitas antimikroba kitosan

Salah satu keunggulan utama kitosan dalam endodontik adalah aktivitas antimikrobanya. Mekanisme kerja antimikroba kitosan terutama didasarkan pada interaksi elektrostatis antara muatan positif pada NH_3^+ terprotonasi kitosan dengan muatan negatif pada membran sel organisme mikro. Interaksi ini mengganggu permeabilitas membran dan menyebabkan hidrolisis peptidoglikan dinding sel, yang akhirnya menimbulkan kebocoran isi sel dan kematian bakteri.¹⁵ Selain itu, molekul kitosan juga dapat menembus dinding sel bakteri yang terdiri atas lapisan murein berlapis-lapis, mencapai membran plasma. Hal ini disebabkan oleh interaksi elektrostatis antara molekul kitosan dan membran sel mikroba, yang menyebabkan kebocoran protein dan meningkatkan penetrasi kitosan ke dalam inti sel serta berikatan dengan DNA mikroba, sehingga menghambat sintesis mRNA dan protein.¹⁶

Aktivitas antimikroba kitosan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis kitosan, derajat deasetilasi, berat molekul, serta kondisi lingkungan seperti pH. Pada kondisi pH rendah, efektivitas kitosan sebagai agen antibakteri meningkat, karena pada pH rendah, muatan positif kitosan lebih stabil, sehingga ikatan elektrostatis dengan dinding sel organisme mikro menjadi lebih kuat.¹⁷

Selain pH, berat molekul (BM) dan derajat asetilasi (DA) juga berperan dalam aktivitas biologis kitosan. Meskipun keduanya memberikan pengaruh secara terpisah, pengaruh BM terhadap efektivitas antimikroba kitosan lebih dominan dibandingkan DA. Kitosan dengan BM rendah lebih efektif dalam menekan pertumbuhan dan reproduksi organisme mikro, karena struktur kitosan yang memiliki rantai pendek mampu berdifusi dan berinteraksi ionik yang lebih tinggi, sehingga lebih mudah berikatan dengan permukaan sel bakteri. Demikian pula, meskipun dalam intensitas yang berbeda, efektivitas antimikroba kitosan meningkat seiring dengan semakin rendahnya derajat asetilasi (DA). Semakin rendah nilai DA, semakin tinggi aktivitas antimikroba yang ditunjukkan terhadap berbagai jenis mikroorganisme, termasuk jamur seperti *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans*; bakteri Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*; dan bakteri Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*). Secara kimiawi, rendahnya DA berarti semakin banyak gugus amino (-NH₂) bebas pada molekul kitosan, yang merupakan titik aktif utama untuk interaksi antimikroba. Jumlah gugus amino yang tinggi meningkatkan muatan positif pada

kitosan, memperkuat interaksinya dengan membran sel mikroba, dan akhirnya meningkatkan efektivitas antimikroba.¹⁸

Dengan kemampuan kitosan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme serta mekanisme kerjanya yang menasar struktur dan fungsi inti sel, kitosan menunjukkan potensi sebagai bahan irigan saluran akar yang efektif menghambat pertumbuhan dan menghancurkan mikroorganisme patogen seperti *E. faecalis* dan *C. albicans*.¹⁹

PEMBAHASAN

Kitosan sebagai agen khelator dan penghilang *smear layer*

Bahan anorganik menyusun sekitar 70% dari struktur dentin, diikuti oleh bahan organik (20%) dan air (10%). Komponen anorganik utama dentin adalah kalsium, yang terkandung dalam bentuk kalsium hidroksiapatit [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{OH}$]. Perubahan pada rasio kalsium dapat berdampak besar terhadap keseimbangan awal antara komponen organik dan anorganik ini.²⁰

Smear layer yang memiliki tekstur granular, amorf, dan tidak beraturan, terdiri dari komponen organik seperti sel darah, serabut saraf, sisa odontoblas nekrotik, protein terkoagulasi, saliva, kolagen, bakteri dan produk metabolitnya, serta jaringan pulpa vital, dan komponen anorganik, disebut juga sebagai debris dentin.²¹ Penelitian mengenai kemampuan kitosan untuk menghilangkan *smear layer* dan menghambat kolonisasi bakteri pada dentin menunjukkan bahwa penghilangan *smear layer* lebih efektif dengan penggunaan khelator baik dalam sediaan gel maupun larutan. Kitosan sebagai gel lubrikasi dan irigasi akhir menunjukkan penghilangan *smear layer* yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan gel kitosan dan saline. Hal ini jelas menunjukkan bahwa aksi sinergistik terjadi dengan penggunaan kitosan dalam dua keadaan fisik. Aksi sinergistik juga terlihat pada penggunaan gel dan larutan EDTA dibandingkan dengan penggunaan gel saja sehingga penggunaan larutan khelator sebagai irigasi akhir sangat diperlukan untuk penghilangan *smear layer* yang lebih baik. Penggunaan irigasi akhir antibakteri seperti kitosan, selain memiliki kemampuan penghilangan *smear layer* yang lebih baik, juga memiliki keunggulan dalam mencegah penempelan bakteri dan pembentukan biofilm dini.²²

Penggunaan larutan irigasi selama proses penghilangan *smear layer* dapat mengubah komposisi mineral dentin serta rasio kalsium (Ca) terhadap fosfor (P) dalam struktur hidroksiapatit, yang berpotensi menyebabkan erosi dentin dan penurunan kekerasan mikro (*microhardness*).²¹ Irigan yang terlalu agresif dapat menghilangkan terlalu banyak komponen organik maupun anorganik dari dentin akar, yang dapat merusak struktur akar dan meningkatkan risiko komplikasi seperti fraktur akar vertikal.

Selain berfungsi mengurangi tekanan pada instrumen rotari dan mencegah ekstrusi irigan secara tidak sengaja, agen khelasi yang bersifat viskos juga membantu dalam navigasi kanal yang mengalami kalsifikasi sehingga mengurangi risiko rusaknya struktur akar. Salah satu bahan yang menjanjikan adalah kitosan, yang mampu membuka tubulus dentin dan menghilangkan *smear layer* tanpa menyebabkan erosi signifikan pada dentin akar.²³ Meskipun mekanisme kerja kitosan belum sepenuhnya dipahami, diduga bahwa efeknya berasal dari pertukaran ion, pembentukan kompleks khelat dengan ion logam (*chelation*), serta adsorpsi terhadap permukaan dentin dan debris.²⁴

Potensi kitosan sebagai agen irigasi saluran akar dan implikasi penelitian mendatang

Kitosan dianggap sebagai satu-satunya poliaminosakarida kationik yang dapat dimodifikasi secara kimiawi sesuai dengan sifat dan fungsinya.¹⁴ Karakteristik fisikokimia dan biologisnya sangat dipenga-

ruhi oleh DA. Kitosan dan turunannya, seperti oligosakarida kitosan, memiliki struktur serupa. Pada skala nano, biopolimer ini dapat mengalami degradasi enzimatik menjadi senyawa yang lebih sederhana. Bergantung pada aplikasinya, kitosan dapat dimodifikasi secara enzimatik maupun kimiawi menjadi konjugat fungsional yang lebih kecil, serta dapat disiapkan dalam berbagai sediaan seperti spons, serat, dan gel.²⁵ Karena sifat-sifat fungsional tersebut, termasuk kemampuan membentuk ikatan silang, kitosan dan analognya telah banyak dimanfaatkan dalam pengembangan bahan biomedis.²⁶

Kitosan juga dikenal memiliki aktivitas antimikroba, meskipun mekanismenya masih terus diteliti.²⁷ Studi *in vitro* oleh Jaiswal et al, menunjukkan bahwa efektivitas antimikroba NaOCl hampir setara dengan kombinasi klorheksidin 2% dan kitosan 2%.²⁸ Penelitian lain menunjukkan bahwa kombinasi NaOCl-EDTA-kitosan dan NaOCl-kitosan secara signifikan mengurangi pembentukan biofilm pada permukaan dentin dibandingkan kelompok kontrol dan NaOCl-EDTA saja. Mekanisme kerja antimikroba kitosan diperkirakan berasal dari gugus amino kationik yang berikatan dengan komponen anionik dinding sel bakteri, seperti asam N-asetilmuramat, asam sialat, dan asam neuraminat, yang mengganggu pertukaran zat, mengkelasi ion logam transisi, dan menghambat enzim.²²

Dalam konteks endodontik, agen irigasi ideal harus efektif menghilangkan komponen organik dan anorganik *smear layer* tanpa merusak struktur dentin.²⁹ NaOCl dan EDTA umum digunakan karena kemampuannya melarutkan jaringan organik dan anorganik. Efektivitas agen khelator, termasuk kitosan, sangat dipengaruhi oleh konsentrasi, volume, dan waktu aplikasi.^{29,30} Kitosan bekerja sebagai agen khelator melalui dua model: *bridge model*, yaitu dua atau lebih gugus amino mengikat satu ion logam, dan *pendant model*, yaitu satu gugus amino mengikat satu ion logam.^{31,32} Meskipun mekanisme pengkelatan terhadap ion kalsium belum sepenuhnya dipahami, diketahui

bahwa gugus fosfat dalam kitosan dapat berikatan dengan ion kalsium, sehingga mendukung proses remineralisasi dentin.^{22,31}

Terkait dampaknya terhadap kekerasan mikro dentin, beberapa studi menunjukkan bahwa kitosan dapat menyebabkan perubahan.³³ Namun tingkat erosi yang dihasilkan umumnya lebih rendah dibandingkan dengan EDTA.³⁴ Studi terbaru juga menunjukkan bahwa kitosan 0,2% memiliki kemampuan setara dengan EDTA dalam menghilangkan *smear layer*, dengan kekasaran permukaan yang lebih minimal.³⁷ Selain itu, kitosan 0,2% menyebabkan penurunan kekerasan mikro yang lebih kecil dibandingkan EDTA 17%.³⁵

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan, baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi, memiliki potensi besar sebagai bahan irigasi saluran akar karena sifat antimikrobanya yang luas dan kapasitas khelasinya. Namun, mengingat adanya variasi dalam metode dan konsentrasi yang digunakan, interpretasi hasil literatur perlu dilakukan secara hati-hati. Penelitian masa depan perlu difokuskan pada pengembangan protokol penggunaan kitosan yang terstandarisasi dalam praktik endodontik. Studi terkontrol secara acak sangat diperlukan untuk memastikan efektivitas kitosan dalam eliminasi bakteri dan penghilangan *smear layer* dibandingkan dengan agen irigasi konvensional.

Disimpulkan bahwa kitosan, poliaminosakarida kationik yang dapat dimodifikasi kimia, memiliki potensi besar dalam bidang biomedis, termasuk endodontik. Sifatnya yang unik, seperti kemampuan membentuk ikatan silang, aktivitas antimikroba, dan mengikat ion logam, menjadikannya agen irigasi saluran akar yang efektif, baik sendiri maupun jika dikombinasikan dengan bahan lain. Namun, mekanisme pengikatan ion kalsium dan efek jangka panjang pada struktur dentin masih membutuhkan penelitian lebih lanjut. Standarisasi penggunaan dan studi klinis diperlukan untuk memastikan keamanan dan efektivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Kumar A, Tamanna S, Iftexhar H. Intracanal medicaments-their use in modern endodontics: a narrative review. *J Oral Res Rev*. 2019;11(2):94.
- Tomer AK, Jain S, Saxena AK, Gupta A, Singh S. Intracanal medicament: a review. *Int J Med Sci Diagn Res*. 2020;4(7):48–51.
- Permatasari R, Ekiyo E. Potensi chitosan sebagai bahan irigasi dalam pembersihan smear layer saluran akar. *Andalas Dent J*. 2023;12(2):61–73.
- Zayat SME, Fawzy MI, Bastawy HA. Efficacy of chitosan as root canal irrigant in removing smear layer in curved root canals using EndoVac irrigation system (SEM study). *Al-Azhar Dent J Girls*. 2018;5(4):485–94.
- Tanumihardja M. Larutan irigasi saluran akar. *Dentofasial*. 2010;9(2):108–15.
- Ratih DN, Enggardipta RA, Kartikaningtyas AT. The effect of chitosan nanoparticle as a final irrigation solution on the smear layer removal, microhardness and surface roughness of root canal dentin. *Open Dent J*. 2020;14:19–26.
- Younes I, Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources: structure, properties and applications. *Mar Drugs*. 2015;13(3):1133–74.
- Taser B. Preparation of chitosan from waste shrimp shells fermented with *Paenibacillus jamilae* BAT1. *Int J Biol Macromol*. 2021;183:1191–9.
- Elieh-Ali-Komi D, Hamblin MR. Chitin and chitosan: production and application of versatile biomedical nanomaterials. *Int J Adv Res* 2016;4(3):411–27.
- Rasti H. Chitin from the mollusc *Chiton*: extraction, characterization and chitosan preparation. *Iran J Pharm Res*. 2017;16(1):366–79.
- Thakare A. Chitosan: a versatile biomaterial revolutionizing endodontic therapy. *Cureus*. 2024;16(6):1–8.
- Azuma K. Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: old and new materials. *J Funct Biomater* 2015;6(1):104–42.
- Suzuki S. The study of chitosan-citrate solution as a root canal irrigant: a preliminary report. *Oral Hyg Health*. 2014;2(142):2332–702.
- Fakhri E. Chitosan biomaterials application in dentistry. *Int J Biol Macromol*. 2020;162:956–74.
- Abidin T. The effectiveness of nano-chitosan high molecular 0.2% as irrigant agent against *Enterococcus faecalis* with passive ultrasonic irrigant. *J Conserv Dent*. 2022;25(1):37–41.
- Yadav P. Evaluation of antimicrobial and antifungal efficacy of chitosan as endodontic irrigant against *E. faecalis* and *C. albicans* biofilm formed on tooth substrate. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(3):361–7.
- Cakiki F, Cakiki EB. Antimicrobial efficacy of chitosan versus sodium hypochlorite: a systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2024;30:5445–60.
- Goy RC, Britto D, Assis OBG. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros*. 2009;19(3):241–7.
- Qutieshat A. Antimicrobial irrigation solutions in root canal treatment: a glance at the past, the present, and the future. *Open Dent J*. 2023;17:1–21.
- Anbalagan K. Smear layer removal and antimicrobial efficacy of chitosan as a root canal irrigant: a systematic review of in-vitro studies. *Odontol* 2025; 113:61–79.
- Ilhan H. Chitosan and chitosan nanoparticle vs EDTA on smear layer removal: systematic review and meta-analysis. *Microsc Res Tech* 2024;87:181-90
- Del Carpio-Perochena A. Chelating and antibacterial properties of chitosan nanoparticles on dentin. *Restor Dent Endod*. 2015;40(3):195–201.
- Silva PV. Time-dependent effects of chitosan on dentin structures. *Braz Dent J* 2012;23(4):357–61.
- Silva PV. Chitosan: a new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation. *Int Endod J* 2013;46(4):332–8.

25. Qin Y, Li P. Antimicrobial chitosan conjugates: current synthetic strategies and potential applications. *Int J Mol Sci.* 2020;21(2):499.
26. Li W. Fabrication and characterization of chitosan–collagen crosslinked membranes for corneal tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed* 2014;25:1962-72
27. de Carvalho M. Chitosan as an oral antimicrobial agent. *Formatex.* 2012;13.
28. Jaiswal N. Evaluation of antibacterial efficacy of chitosan, chlorhexidine, propolis and sodium hypochlorite on *E. faecalis* biofilm: in vitro study. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(9):e1066–74.
29. Ferreira I. Does adjunctive procedure with solvent mixtures affect root dentin hardness? *Odontol* 2021;109:812–8.
30. Veeraiyan M. Evaluation of smear layer removal and micro hardness alteration of radicular dentin using various chelating agents. *J Pharm Bioall Sci.* 2023;15(Suppl):S582–7.
31. Karuppiyah G. Comparison of EDTA, 0.2% chitosan nanoparticles, and QMIX2in1 for smear layer removal at apical third. *Endodontol* 2021;33:206–11.
32. Hussein ER. Effects of chitosan NP, citric acid, and EDTA on dentin smear layer using two irrigation needles. *J Conserv Dent.* 2022;25:431–5.
33. Mathew SP. Comparative evaluation of smear layer removal by chitosan and EDTA and its effect on root dentine. *J Conserv Dent* 2017;20:245–50.
34. Praveen M. Comparative evaluation of smear removal efficacy of chitosan and citric acid. *J Pharm Bioall Sci* 2017;9(Suppl 1):S73–8.
35. Bastawy HAEN, Ezzat R. Impact of chitosan as chelating agent on microhardness and mineral content of intraradicular dentin. *Al-Azhar Dent J Girls.* 2016;3:1–10.